

Tesis de Posgrado

Síntesis de esteres de cetosas y su reacción con el amoníaco

Teglia, María Catalina

1973

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias
Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Teglia, María Catalina. (1973). Síntesis de esteres de cetosas y su reacción con el amoníaco. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1409_Teglia.pdf

Cita tipo Chicago:

Teglia, María Catalina. "Síntesis de esteres de cetosas y su reacción con el amoníaco". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1973.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1409_Teglia.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

FOYBA

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

SINTESIS DE ESTERES DE CETOSAS Y SU REACCION CON EL AMONIACO

MARIA CATALINA TROLIA

1409 -
(2)

Tesis presentada para optar al título de

Doctor en Química

(Orientación Química Orgánica)

-1973-

1409



A mis padres

Agradesco al Dr. Raúl A. Cadenas,
Director de esta Tesis, su dedica-
ción en mi formación científica y
en la realización del presente
trabajo.

Agradesco también:

- Al Departamento de Química de la ex Facultad de Agronomía y Veterinaria por las facilidades concedidas para el desarrollo del presente trabajo.
- A la Dra. Blanca B. de Deferrari por la realización de los microanálisis.
- A los Drs. M. Kōmoto (Universidad de Hyogo, Japón) y M.R. Grimmett (Universidad de Otago, Nueva Zelandia) por las muestras de imidasoles facilitadas.
- Al Dr. Eduardo G. Gros por la colaboración prestada.
- Al Sr. J.J. Ferrer y a los Drs. M.A. Rívada y S.A. de Licastro por los espectros realizados.
- Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas por el apoyo financiero otorgado.
- A los integrantes de la Cátedra de Química Orgánica de la Facultad de Agronomía por su colaboración y estímulo.

Introducción

El objeto del presente trabajo consistió en estudiar la reacción de amonólisis de ésteres de cetosas.

Las investigaciones realizadas sobre la reacción de aldosas y aldobiosas con amoníaco mostraron que entre los mecanismos que intervienen se encuentra la migración intramolecular O→N de grupos acilo. En el caso de ésteres acilados de cetosas, se pensó que podría observarse un comportamiento similar, pero no se aislaron productos de migración, pudiéndose comprobar en cambio, que se producían compuestos heterocíclicos nitrogenados y melanoidinas.

A los efectos de dicho estudio, se sintetizaron acetatos y benzoatos de D-fructosa y L-sorbose. Se preparó y demostró la estructura de la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranosa, se sintetizaron dos hexabenoatos de L-sorbose y la 1,2,3,4,5-penta-O-benzoil- α -L-sorbopiranosa, los cuales no figuran descritos anteriormente en la literatura.

SECRET

I - DERIVADOS ACETILADOS Y ENZOILADOS DE D-FRUCTOSA Y L-SORBOSA.

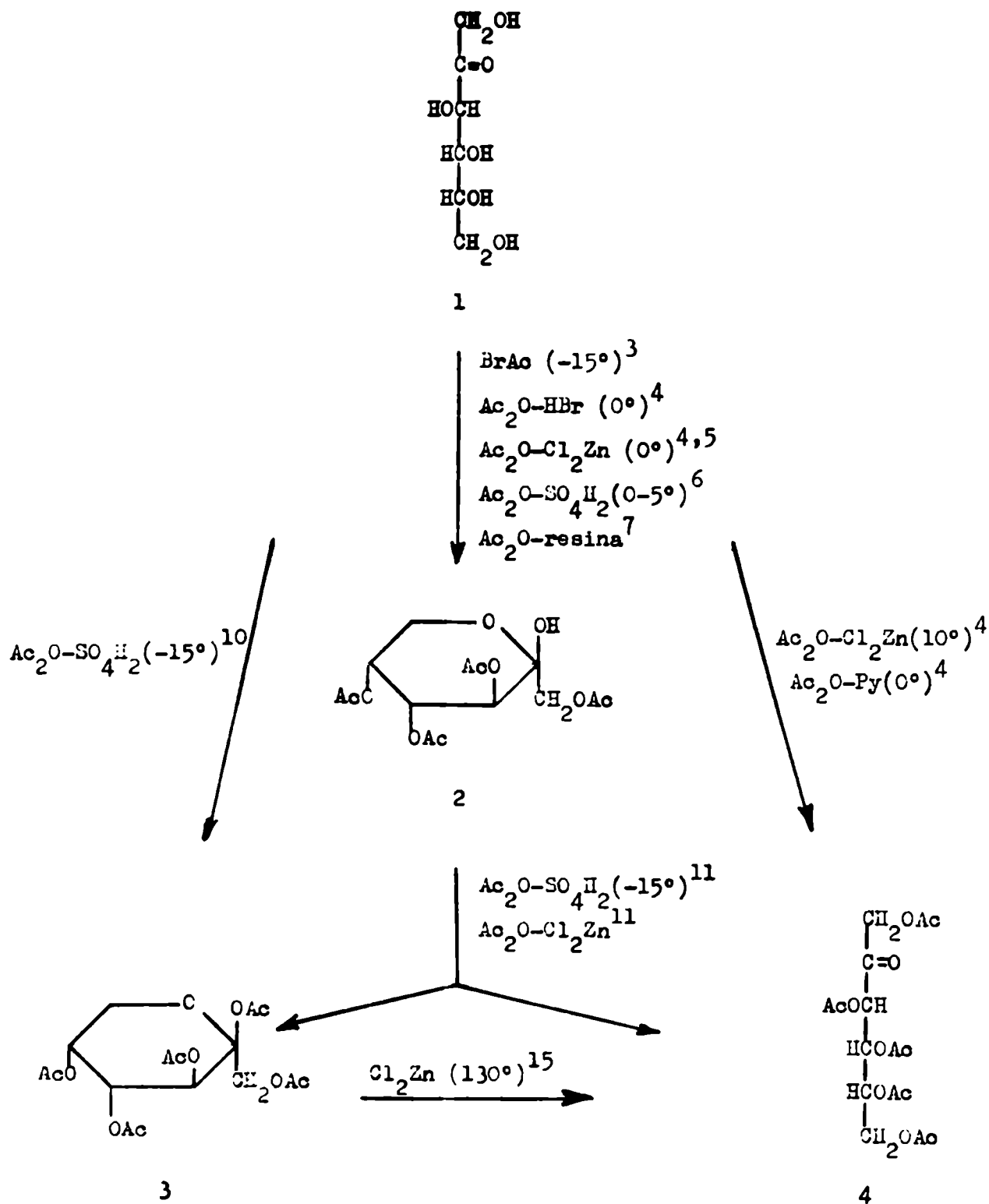
Acetatos de fructosa.

Las primeras experiencias en la síntesis de ésteres de cetosas comensaron en 1888 cuando Winter¹ acetiló la D-fructosa (1) según el método de Liebermann, con anhídrido acético y acetato de sodio, aunque no logró obtener ningún producto cristalino. Erwig y Koenigs² por acción del anhídrido acético y cloruro de zinc sobre la D-fructosa también obtuvieron un acetato siruposo al cual atribuyeron una estructura cíclica.

En 1908 Brauns³ obtuvo el primer acetato de fructosa cristalino empleando bromuro de acetilo a -15° ; el análisis de este compuesto correspondió al de un tetraacetato. A partir de entonces se emplearon diversas técnicas para obtener esta sustancia y los rendimientos fueron variables.

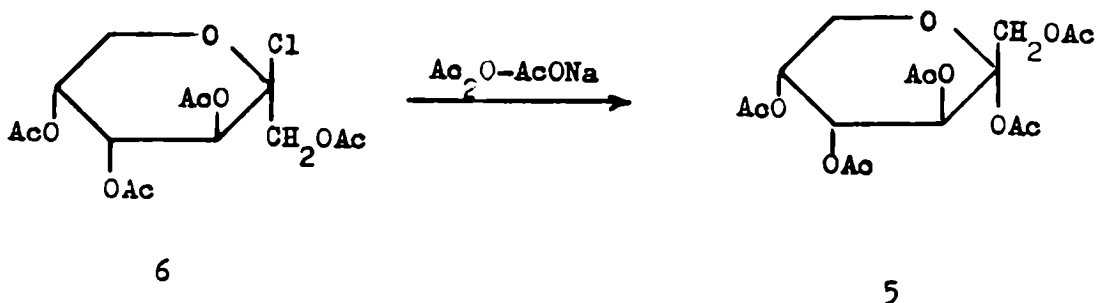
Endson y Brauns⁴ utilizaron anhídrido acético-ácido bromhídrico o anhídrido acético-cloruro de zinc a 0° . Paosu y Rich⁵ también utilizaron anhídrido acético-cloruro de zinc a 0° pero aumentaron el período de reacción y obtuvieron un mejor rendimiento (45%). Mas tarde Helferich y Steinpreis⁶ emplearon anhídrido acético-ácido sulfúrico a $0-5^{\circ}$ y luego trataron la solución con fósforo y bromo y posteriormente con acetato de sodio llevando de esa manera el rendimiento al 60%. En 1962 Christensen⁷ introdujo el empleo de anhídrido acético con resina de intercambio iónico y si bien el rendimiento no fue muy elevado esta técnica resultó práctica por su simplicidad.

Los estudios realizados por Endson y Brauns⁸ y por Haworth y colaboradores⁹ demostraron que este compuesto poseía un anillo piranosico y su carbono anomérico tenía la configuración β o sea que se trataba de la 1,3,4,5-tetra-O-acetil- β -D-fructopiranososa (2).



Por otra parte, la 1,2,3,4,5-penta-O-acetil- β -D-fructopiranososa (3) fue obtenida a partir de la D-fructosa (1) utilizando anhídrido acético-ácido sulfúrico¹⁰, o bien a partir del tetraacetato 2 y anhídrido acético en presencia de ácido sulfúrico o cloruro de zinc¹¹. Estas últimas reacciones dieron otro pentaacetato de fructosa (4) el cual fue también obtenido a partir de la D-fructosa y anhídrido acético en presencia de cloruro de zinc o piridina⁴. Se pensó que este compuesto poseía la estructura de α -D-fructopiranososa, pero trabajos posteriores^{5,12-14}, demostraron que se trataba de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-D-fructosa (4). Esta sustancia se obtuvo también por transformación de 3 en presencia de cloruro de zinc a 130°¹⁵ (ver esquema I).

La 1,2,3,4,5-penta-O-acetil- α -D-fructopiranososa (5) ha sido preparada por Cramer y Paosu¹⁶ tratando el cloruro de 1,3,4,5-tetra-O-acetil- β -D-fructopiranosilo (6) con anhídrido acético-acetato de sodio, reacción en la que se produce inversión en la configuración del C-2.

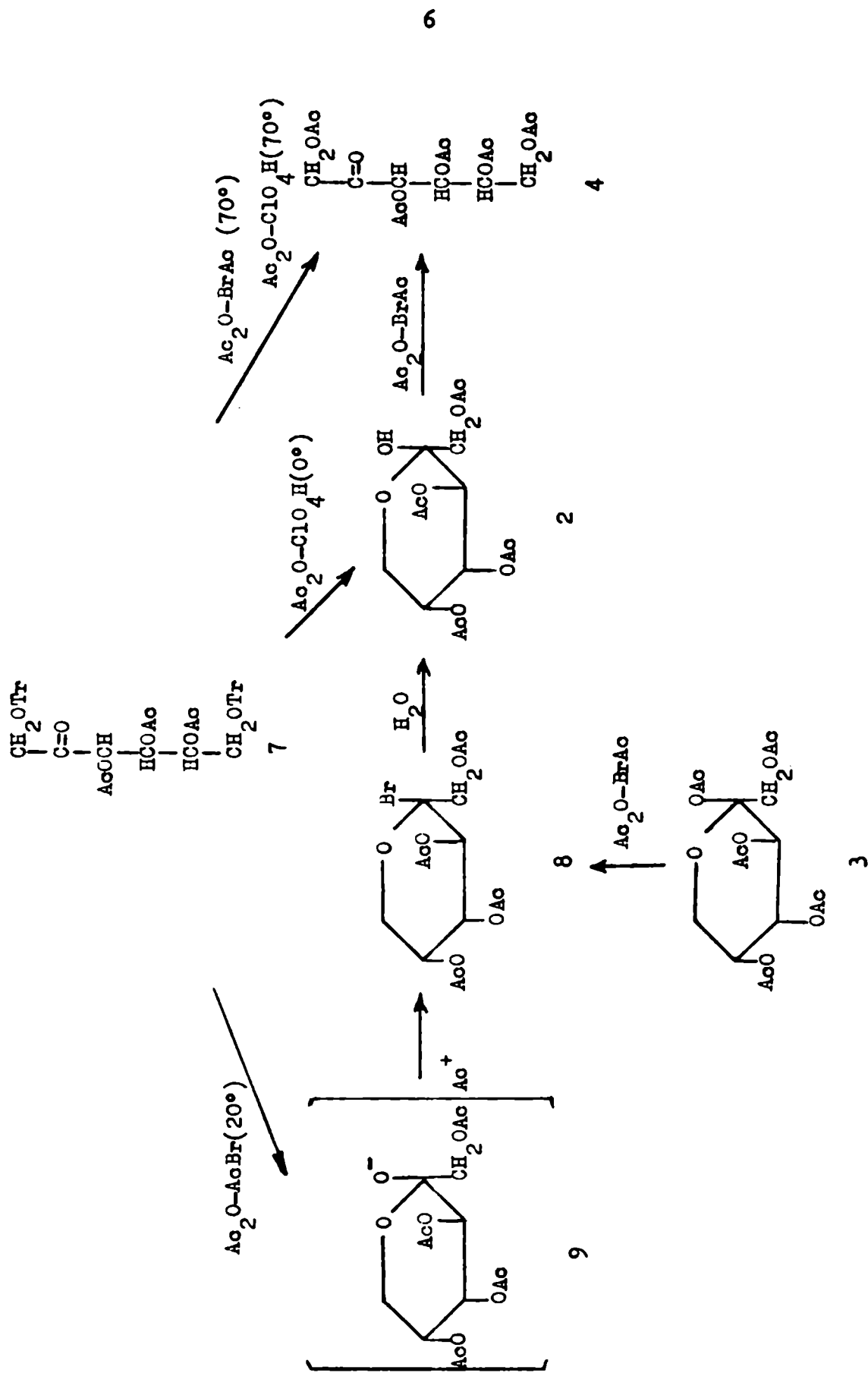


Hennig¹⁷ realizó un estudio sobre los posibles mecanismos de reacción involucrados en la formación de acetatos cíclicos y cetónicos de fructosa. Por reacción de la 1,6-di-O-tritil-3,4,5-tri-O-acetil-ceto-D-fructosa (7) con bromuro de acetilo en anhídrido acético o en cloroformo a temperatura ambiente, obtuvo la 1,3,4,5-tetra-O-acetil- β -D-fructopiranososa (2).

Cuando la reacción se realizó a 70° se obtuvo la penta-O-acetil-ceto-D-fructosa (4). Este último compuesto se pudo obtener por interacción de 2 con bromuro de acetilo-anhídrido acético. Esto podría hacer suponer que 2 era un producto intermediario de la reacción de 7 para dar 4, pero los estudios realizados por el autor confirmaron que tal suposición no era o r r e c t a . Contrariamente a lo que sucede con los derivados de la glucosa, la acción del bromuro de acetilo sobre la D-fructosa conduce a la β -tetraacetil-D-fructopiranos³ y no al bromo derivado. Esto es debido a que la técnica de trabajo implica agitación con agua y en esta solución el derivado halogenado de fructosa que se formaría inicialmente, se hidroliza.

Hennig comprobó también que la acción del bromuro de acetilo y anhídrido acético sobre 1,2,3,4,5-penta-O-acetil- β -D-fructopiranos³ (3) condujo fácilmente en medio acuoso al tetraacetato 2. Cuando trabajó en ausencia de agua el autor aisló el bromuro de 1,3,4,5-tetra-O-acetil- β -D-fructopiranosilo (8) mientras que con cloruro de acetilo en cloroformo obtuvo la acetoclorofrufructosa. En base a estos hechos dedujo que por acción del bromuro de acetilo sobre la β -pentaacetil-D-fructosa (3) se obtenía el tetraacetato 2 debido a la hidrólisis del correspondiente acetobromo derivado (8) (ver esquema II). De acuerdo con esto Hennig postuló dos pasos intermedios en la transformación de 7 a 2: a) formación de 1,2,3,4,5-penta-O-acetil- β -D-fructopiranos³ (3) y b) formación del bromuro de 1,3,4,5-tetra-O-acetil- β -D-fructopiranosilo (8). Si bien fracasaron los intentos para aislar ambos compuestos en las condiciones de la reacción, el autor sostiene que la acetobromofrufructosa (8) es un intermediario, mientras que no sería tan seguro que el β -pentaacetato (3) se forme en la reacción. Consideró además la posibilidad de formación del ión complejo 9.

Otro hecho que confirmaría que la acetobromofrufructosa (8) es un in -



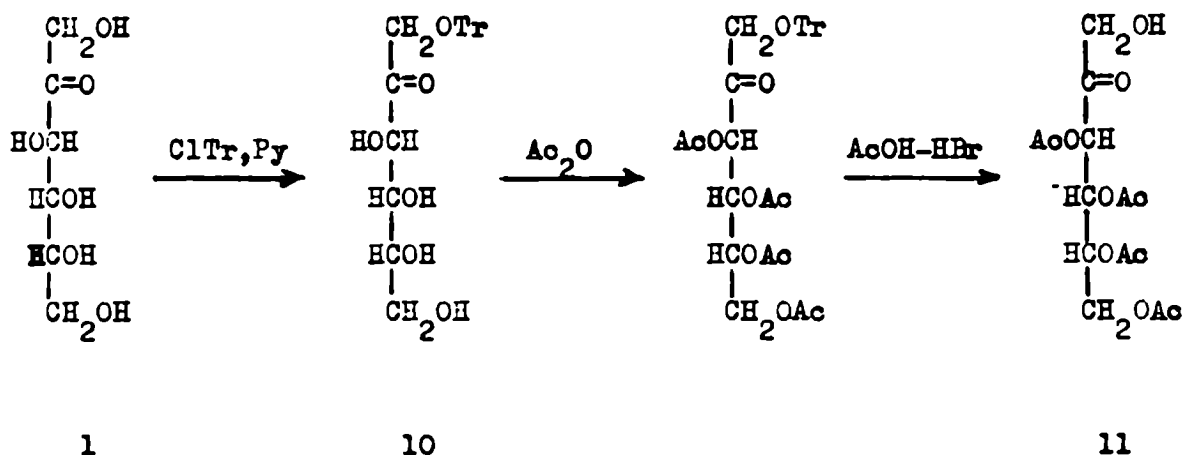
Esquema II

intermediario, fue que en la reacción de formación de 2 a partir de 7 se consumieron tres moles de bromuro de acetilo, probablemente dos para formar bromuro de tritilo y uno para el acetobromo derivado 8.

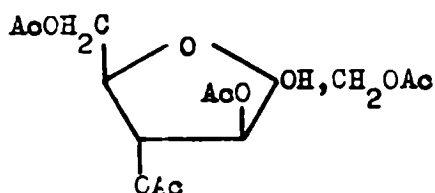
Acercos del mecanismo de la reacción del bromuro de acetilo sobre 7, Hennig postuló que el oxígeno unido a los grupos tritilo disminuye la densidad electrónica en el carbono terciario del tritilo y este constituye el punto de ataque del bromuro de acetilo. El tritilo se rompe como catión y forma bromuro de tritilo. Queda el triacetato de fructosa con oxígeno negativo en C-1 y C-6, próximos a los iones acetilo. Con el C-1 solo es posible una estabilización mediante formación de un acetato, mientras que con el C-6 pueden ocurrir dos reacciones competitivas: a) estabilización mediante cierre del anillo (a temperatura ambiente); b) estabilización por acetilación (a temperatura más elevada).

Hennig trató la 1,6-ditritil-3,4,5-tri-O-acetil-ceto-D-fructosa (7) con anhídrido acético-ácido perclórico y obtuvo diferentes productos según la temperatura de la reacción: a 0° aisló el tetraacetato 2 mientras que a 70° obtuvo el pentaacetato 4. Posteriormente Brederick¹⁸ obtuvo este pentaacetato con mayor rendimiento utilizando los mismos reactivos pero a menor temperatura.

A partir de otro derivado tritilado, la 1-O-tritil-D-fructosa (10), Helferich y Brederick¹⁹ aislaron otro tetraacetato de fructosa por acetilación de 10 seguida de detritilación. Posteriormente Brederick y Protser²⁰ demostraron que este compuesto era la 3,4,5,6-tetra-O-acetil-ceto-D-fructosa (11).



Los derivados acetilados de fructosa con estructura furanósica no se han obtenido en forma cristalina. Pictet y Vogel²¹ obtuvieron la 1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-fructofuranosa (12) muy impurificada, como un subproducto de la síntesis de la 1,3,4,5-tetra-O-acetil-β-D-fructopiranososa (2)⁴.

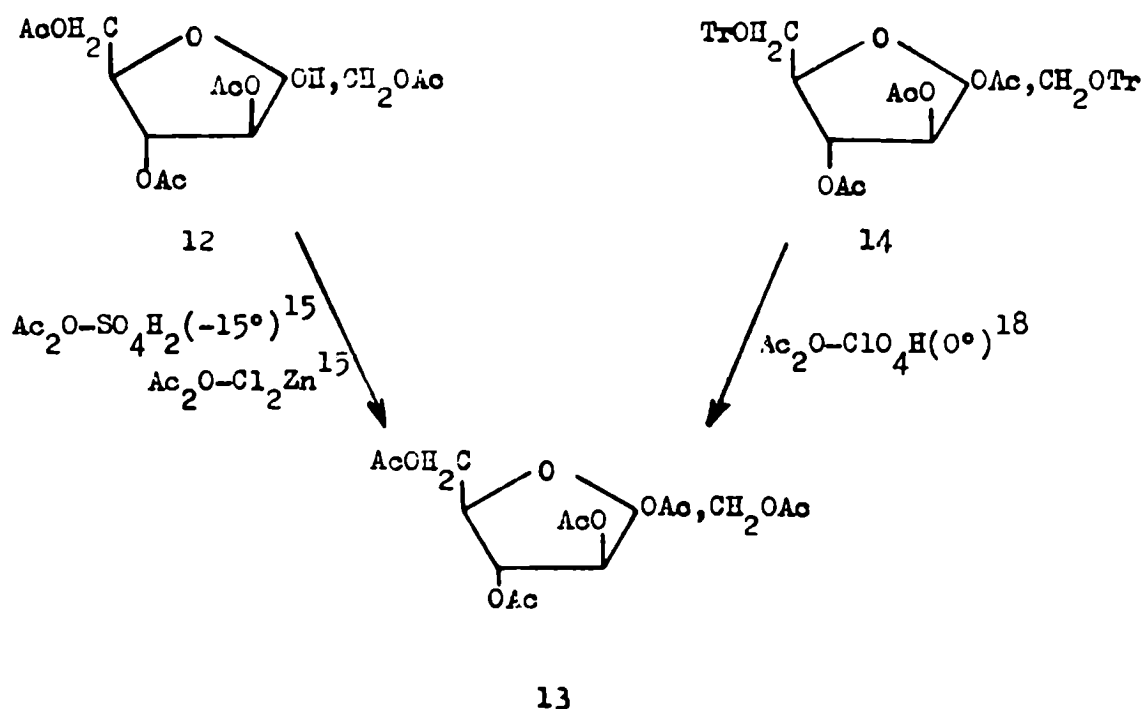


12

Irvine y colaboradores²² aislaron este tetraacetato furanósico (12) a partir del etilfructofuranósido por acetilación con anhídrido acético-acetato de sodio y posterior eliminación del grupo etilo. Estos autores obtuvieron también este compuesto a partir de inulina, vía la formación del triacetato de inulina. Este último procedimiento fue mas tarde mejorado por Irvi-

ne y Stiller²³ y por Binkley y Wolfrom²⁴. Irvine y Oldham²⁵ aislaron el tetraacetato furanósico (12) por tratamiento de la octaacetilsacarosa con bromuro de acetilo.

La 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-fructofuranosa (13) fue obtenida por Bredereck y Höschele¹⁵ como un jarabe tratando la 1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-fructofuranosa (12) con anhídrido acético en presencia de ácido sulfúrico o cloruro de zinc. Estos autores obtuvieron también este pentaacetato 13 a partir del triacetato de inulina con anhídrido acético-ácido perclórico a 0°. La prueba de su estructura fue obtenida¹⁸ por acetilación de la 1,6-di-O-tritil-2,3,4-tri-O-acetil-D-fructofuranosa (14) con anhídrido acético-ácido perclórico a 0°.



Bredereck y colaboradores²⁶ hicieron un estudio detallado sobre la relación entre la estructura y los espectros U.V. de los derivados tetra

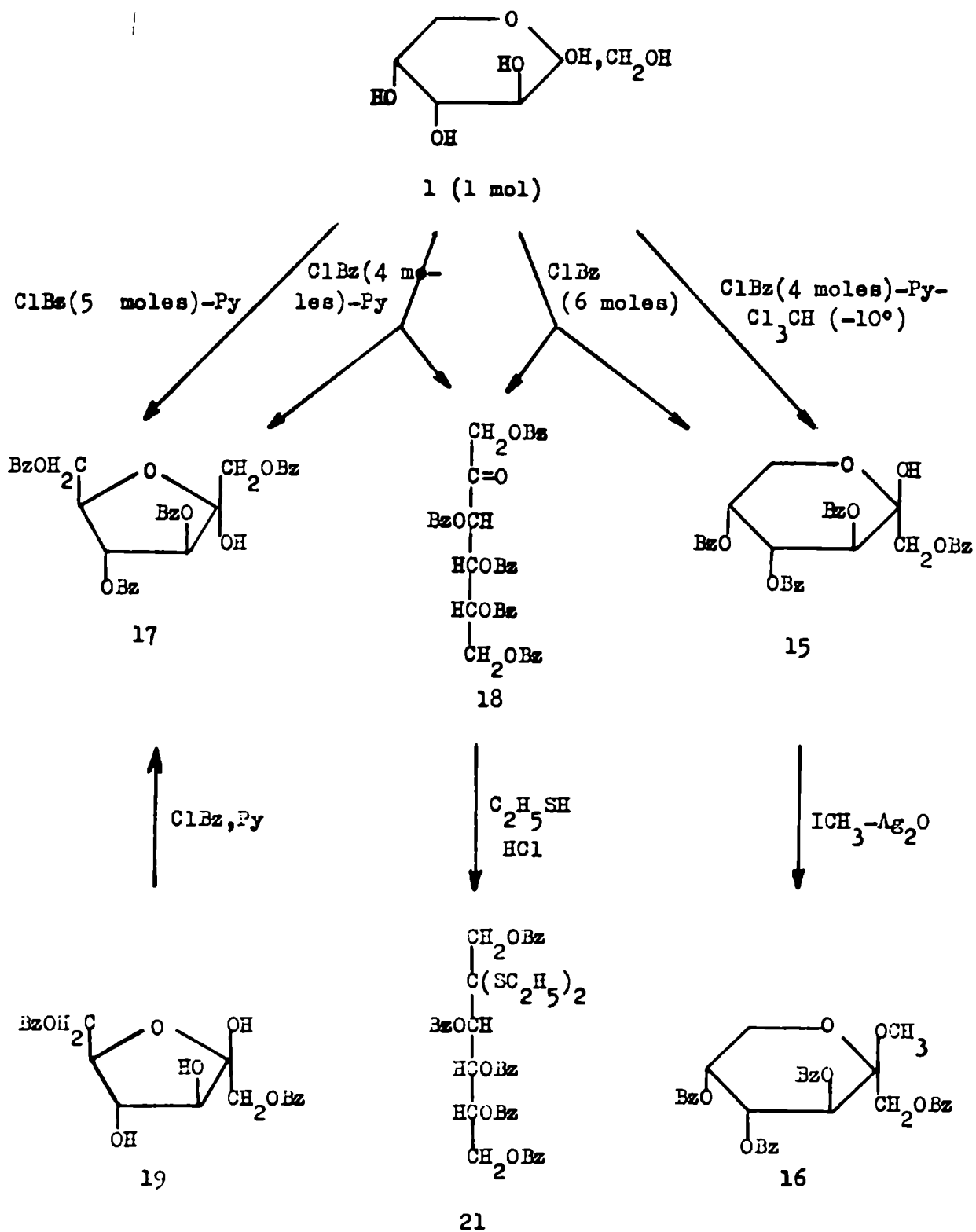
y pentaacetilados de la D-fructosa, y determinaron el número de grupos acetilo por comparación del coeficiente de extinción molar ϵ de los acetatos con el valor de ϵ para el acetato de etilo, mostrando que el número de acetilos hacen variar el ϵ de cada acetato en valores múltiples del ϵ del acetato de etilo.

Benzoatos de fructosa

Si bien a fines del siglo pasado Skraup²⁷ describió la síntesis de dos tetrabenzoatos de fructosa y Panormow²⁸ se refirió a la obtención de un pentabenzoato amorfo, se ha puesto en duda la pureza de estas sustancias ya que posteriormente no ha sido aislado ningún derivado benzoilado cuyas constantes físicas coincidan con las descritas por esos autores.

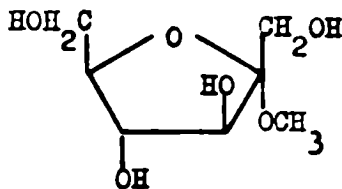
En 1933 Brigl y Schinle²⁹ obtuvieron la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- β -D-fructopiranososa (15) agregando D-fructosa (1) a una mezcla enfriada a -10° de cloruro de benzoilo, piridina y cloroformo. La relación molar de cloruro de benzoilo a D-fructosa era 4:1. Este benzoato por acción de yoduro de metilo-óxido de plata fue convertido en el metil 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- β -D-fructopiranosido (16). Cuando se efectuó la benzoilación en las mismas condiciones y con la misma relación molar pero en ausencia de cloroformo, se obtuvo una mezcla de 1,3,4,6-tetra-O-benzoil- α -D-fructofuranosa (17) y 1,3,4,5,6-penta-O-benzoil-oeto-D-fructosa (18) (ver esquema III).

Los mismos autores³⁰ prepararon la 1,3,4,6-tetra-O-benzoil- α -D-fructofuranosa (17) con un 70% de rendimiento, utilizando una relación molar de cloruro de benzoilo a fructosa de 5:1, en ausencia de cloroformo. La estructura furanósica de este tetrabenzoato fue estudiada por los mismos autores³¹ quienes lo sintetizaron a partir de la 1,6-di-O-benzoil- β -D-fructofuranosa (19) y prepararon su metil derivado, el cual por trata-



Esquema III

miento con hidróxido de bario en metanol dió el metil α -D-fructofuranó_ sido (20).



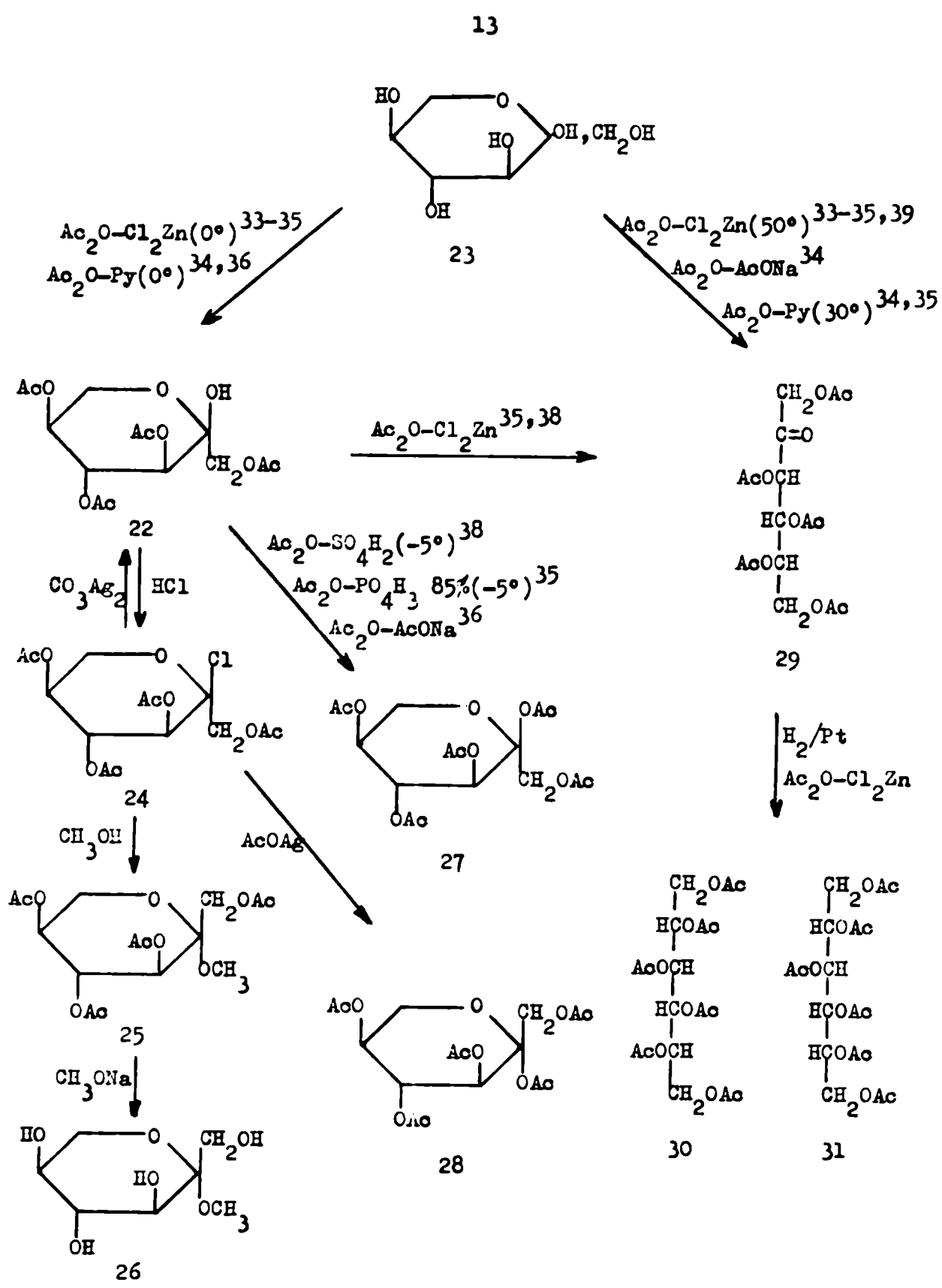
20

En 1952 Ness y Fletcher³² obtuvieron este tetrabencato por acción de ácido bromhídrico y ácido acético glacial sobre la octabenzoisacarosa.

Brigl y Schinle²⁹ obtuvieron también la 1,3,4,5,6-penta-O-benzoil-ce_ to-D-fructosa (18) junto con la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- β -D-fructopi_ ranosa (15) a partir de una solución enfriada a -10° de cloruro de benzoi_ lo en piridina y cloroformo a la cual se agregó D-fructosa. La relación molar de cloruro de benzoi_ lo a fructosa fue 6:1. En ese trabajo se demues_ tra la estructura ceto de 18 mediante la preparación del dietilmercaptal correspondiente (21).

Acetatos de sorbosa

La 1,3,4,5-tetra-O-acetil- α -L-sorbopiranososa (22) fue obtenida por acetilación de la L-sorbosa (23) con anhídrido acético en presencia de clo_ ruro de zinc³³⁻³⁵ o de piridina^{34,36}. Los tetraacetatos obtenidos por es_ tos métodos diferían en el punto de fusión, pero Arragon³⁴ determinó por medio de diagramas de rayos X, que poseían la misma estructura cristalina. Además Cramer y Pacsu³⁷ consignaron que muestras preparadas con cada uno de los métodos, después de varias recristalizaciones de éter absoluto die_



Esquema IV

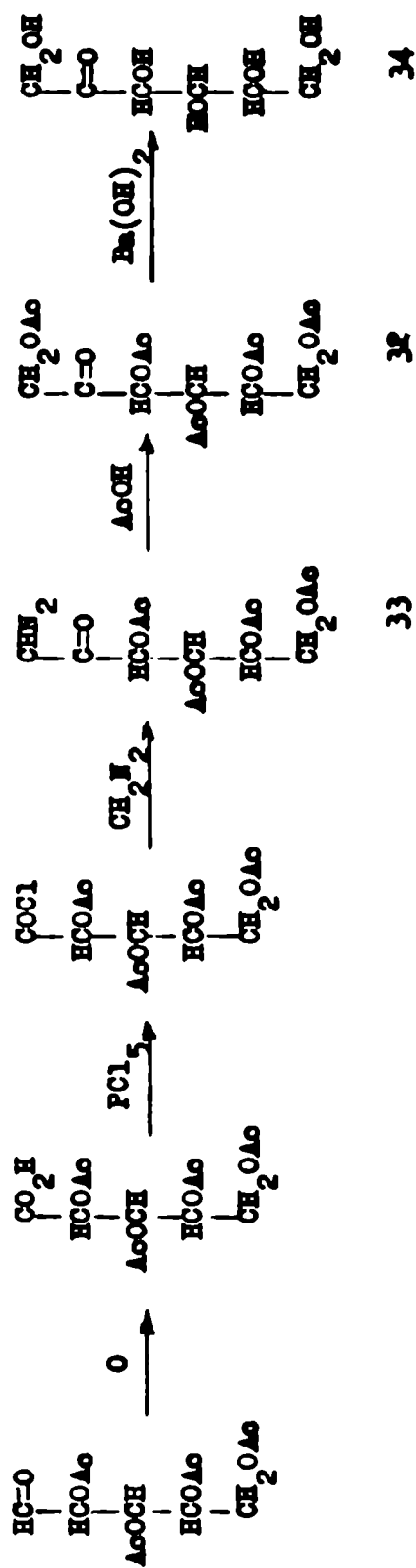
con el mismo punto de fusión y punto de fusión mezcla e idéntico poder rotatorio.

La configuración α de este compuesto fue asignada por Schlubach y Graefe³⁶ quienes a partir del tetraacetato 22 prepararon el cloruro de 1,3,4,5-tetra-O-acetil- α -L-sorbopiranosilo (24), el cual tratado con metanol dió, por inversión de la configuración, el metil 1,3,4,5-tetra-O-acetil- β -L-sorbopiranosido (25) que por desacetilación con metóxido de sodio condujo al metil β -L-sorbósido (26) correspondiente (ver esquema IV). Además a partir del acetocloruro derivado 24 pudo regenerarse el α -tetraacetato 22 por tratamiento con carbonato de plata.

La 1,2,3,4,5-penta-O-acetil- α -L-sorbopiranososa (27) se obtuvo por tratamiento de la 1,3,4,5-tetra-O-acetil- α -L-sorbopiranososa (22) con: a) anhídrido acético-ácido sulfúrico a -5° ³⁸; b) anhídrido acético-ácido fosfórico 85% en las mismas condiciones anteriores pero prolongando el tiempo de reacción³⁵; c) anhídrido acético-acetato de sodio a temperatura ambiente y posterior calentamiento a 100° ³⁶.

Schlubach y Graefe³⁶ obtuvieron también la 1,2,3,4,5-penta-O-acetil- β -L-sorbopiranososa (28) por tratamiento del cloruro de 1,3,4,5-tetra-O-acetil- α -L-sorbopiranosilo (24) con acetato de plata.

La 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-orto-L-sorbosa (29) fue obtenida por acetilación de la L-sorbosa (23) con anhídrido acético-cloruro de zinc^{33-35,39}, con anhídrido acético-acetato de sodio³⁴ o con anhídrido acético-piridina^{34,35}. En este último caso se obtuvo mezclada con la 1,3,4,5-tetra-O-acetil- α -L-sorbopiranososa (22) y ambas pudieron ser separadas por recristalización fraccionada. Los mejores rendimientos de penta-O-acetil-orto-L-sorbosa (29) se obtuvieron cuando se trabajó en presencia de cloruro de zinc y anhídrido acético y a una temperatura de aproximadamente 50° . La estructura de este compuesto fue demostrada por hidrogenación catalítica y posterior acetilación obteniéndose hamaacetil-L-iditol (30) y hamaacetil-D-glucitol(31)^{37,38}



34

32

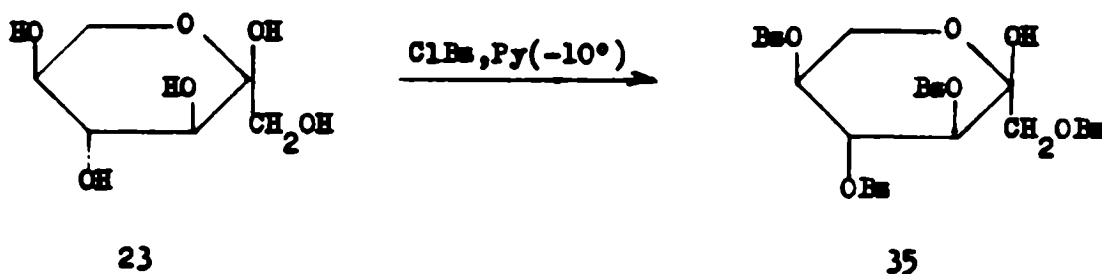
33

Arragon^{35,38} obtuvo también este pentaacetato (29) por acetilación de la 1,3,4,5-tetra-O-acetil- α -L-sorbopiranososa(22) con anhídrido acético-cloruro de zinc (ver esquema IV).

Wolfrom y colaboradores⁴⁰ sintetizaron la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-D-sorbosa (32) a partir de la 2,3,4,5-tetra-O-acetil-D-xilosa vía la formación de la 1-desoxi-1-diazo-3,4,5,6-tetra-O-acetil-D-sorbosa (33). La desacetilación de (32) con hidróxido de bario condujo a la D-sor**u**bosa (34) (ver esquema V).

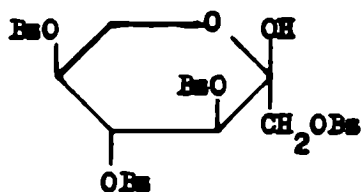
Benzoatos de sorbosa

Paulsen y colaboradores⁴¹ obtuvieron un compuesto tetrabenzoilado de L-sorbosa por enfriamiento a -10° de una solución piridínica de L-sorbosa (23) y posterior benzoilación a esa temperatura. En esas condiciones el equilibrio piranososa \rightleftharpoons furanososa \rightleftharpoons forma cetónica se desplaza lentamente hacia la forma piranósica, termodinámicamente mas estable, obteniéndose la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (35) con un rendimiento del 85%.

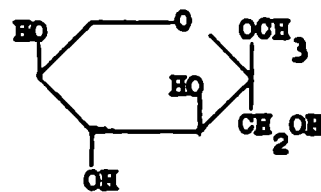
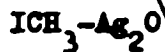


La estructura de este compuesto fue demostrada por tratamiento con ioduro de metilo-óxido de plata, obteniéndose el metil 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranosido (36) idéntico al obtenido al benzoilar

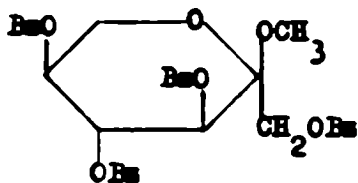
el metil α -L-sorbopiranosido (37).



35

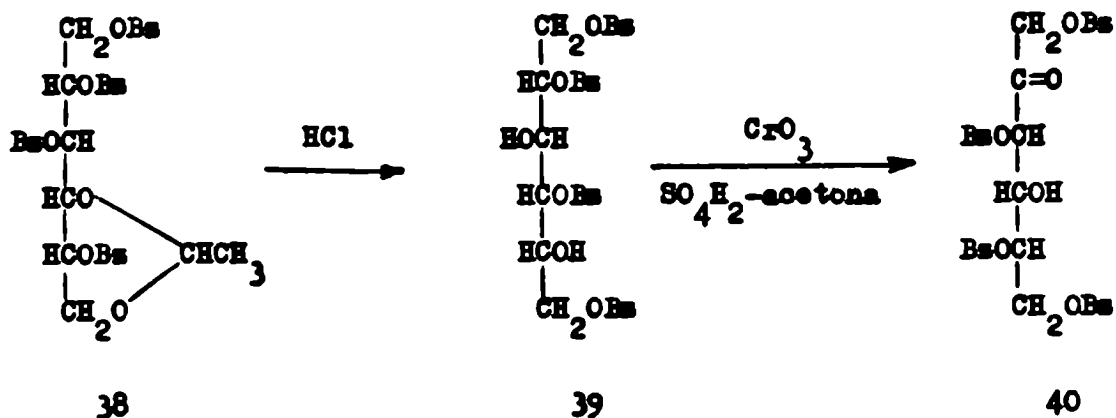


37

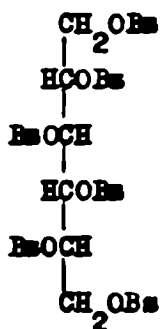


36

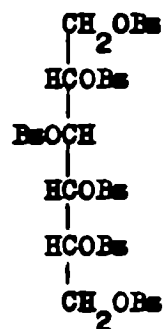
Matsui y colaboradores⁴² al realizar la hidrólisis ácida del 1, 2,3,5-tetra-O-benzoil-4,6-O-etiliden-D-glucitol (38) obtuvieron, por migración de grupos benzoilo, el 1,2,4,6-tetra-O-benzoil-D-glucitol (39). Al oxidar 39 con trióxido de cromo en ácido sulfúrico-acetona obtuvieron entre otros productos la 1,3,5,6-tetra-O-benzoil-ceto-L-sorbosa (40).



La estructura de 40 fue demostrada por hidrogenación con borohidruro de sodio y posterior bencoilación obteniéndose el haza-O-bensoil-L-iditel (41) y el haza-O-bensoil-D-glucitel (42).



41



42

Las constantes físicas de los ésteres acetilados y bencoilados de la fructosa y la sorbosa figuran en la Tabla I.

Tabla I

	P.F.	$[\alpha]_D$	Solvente	Referencias
<u>Acetatos de fructosa</u>				
1-O-acetil-D-fructosa	133°	-67,7°	agua	43
tri-O-acetil-D-fructosa	jarabe	-20,4°	Cl ₃ OH	44
1,3,4,5-tetra-O-acetil-β-D-fructopiranosaa.	131	-91,6°	Cl ₃ OH	3,4,5,6,7, 8,9,17.
1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-fructofuranosaa.	jarabe	+31,5°	Cl ₃ OH	21,22,23, 24,25.
3,4,5,6-tetra-O-acetil-ceto-D-fructosa.	112°	+52°	Cl ₃ OH	19,20
1,2,3,4,5-penta-O-acetil-β-D-fructopiranosaa.	108°	-120,9°	Cl ₃ OH	4,10,11
1,2,3,4,5-penta-O-acetil-α-D-fructopiranosaa.	122°	+47,4°	Cl ₃ OH	16
1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-fructofuranosaa.	liquido	+38,3°	Cl ₃ OH	15,18
1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-D-fructosa.	70°	+34,7°	Cl ₃ OH	4,5,11,12, 13,14,15,17 18,45.

	P.F.	$[\alpha]_D$	Solvente	Referencias
1,3,4,5,6-penta-O-acetil- octo-L-fructosa.	69°	-35,0°	Cl ₃ OH	46
<u>Benzoatos de fructosa.</u>				
1-O-benzoil-D-fructopira- nosa.	123°	-43,0°	agua	20,47,48
1,6-di-O-benzoil-β-D- fructofuranosa.	114°	-7,3° → 2°	etanol	30,49
tri-O-benzoil-D-fructosa.	amorfo	-249,7°	etanol	50
1,3,4,5-tetra-O-benzoil- β-D-fructopiranosaa.	174°	-164,9°	Cl ₃ OH	29
1,3,4,6-tetra-O-benzoil- α-D-fructofuranosa.	124°	-6,1° -13,7°	Cl ₃ OH	29,30,31, 32.
1,3,4,5,6-penta-O-benzoil- octo-D-fructosa.	124°	+40,9°	Cl ₃ OH	29.

	P.F.	$[\alpha]_D$	Solvente	Referencias
<u>Acetatos de sorbosa.</u>				
1,3,4,5-tetra-O-acetil- α -L-sorbopiranosaa.	100°	-19,4°	Cl ₃ CH	33,34,35, 36,37.
1,2,3,4,5-penta-O-acetil- α -L-sorbopiranosaa.	97°	-56,5°	Cl ₃ CH	35,36,38
1,2,3,4,5-penta-O-acetil- β -L-sorbopiranosaa.	113°	+74,4°	Cl ₃ CH	36
1,3,4,5,6-penta-O-acetil- octo-L-sorbosa.	99°	+2,8°	Cl ₃ CH	33,34,35, 37,38,39.
1,3,4,5,6-penta-O-acetil- octo-D-sorbosa.	97°	-2,5°	Cl ₃ CH	40
<u>Benzoatos de sorbosa.</u>				
1-O-benzoil-L-sorbosa	133°	-3,4°	metanol	51
1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranosaa.	133°	+49,8°	D.M.F.	41
1,3,5,6-tetra-O-benzoil- octo-L-sorbosa.	127°	+14,7°	D.M.F.	42

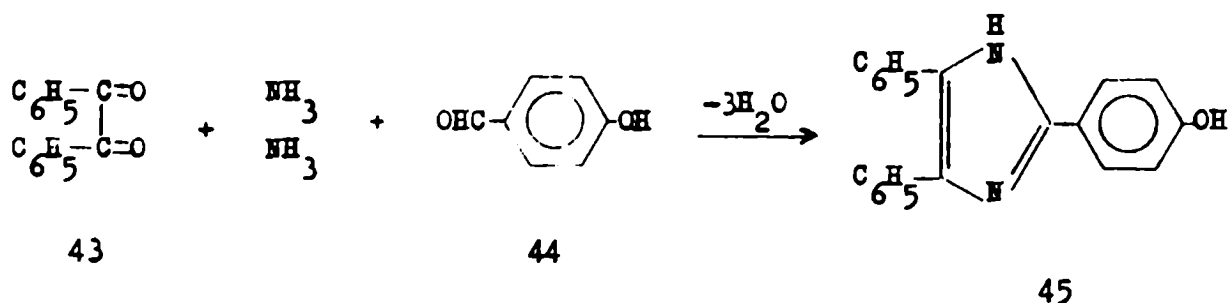
1998年12月

II - FORMACION DE COMPUESTOS HETEROCICLICOS POR ACCION DEL AMONIACO SOBRE

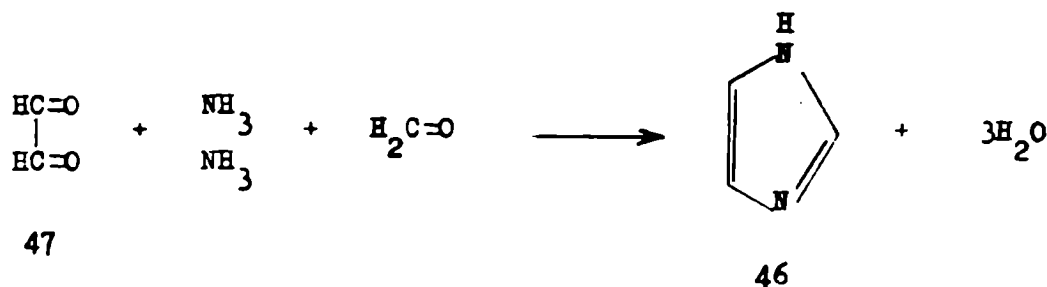
HIDRATOS DE CARBONO

Formación de imidazoles

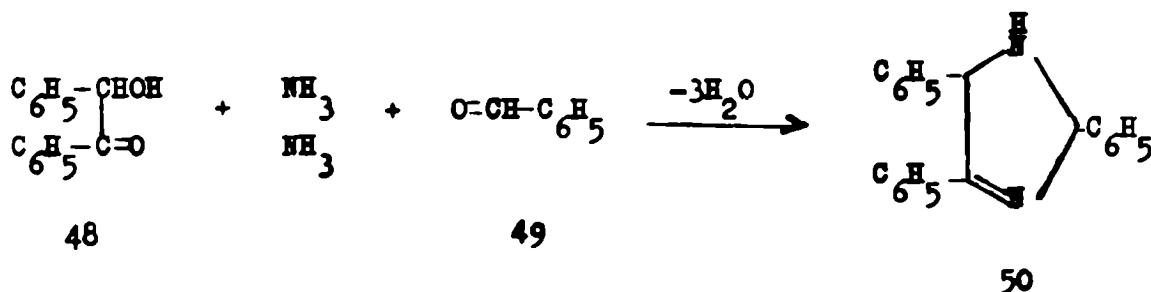
En 1882 Japp y Robinson⁵² describieron la formación de imidazoles a partir de compuestos α -dicarbónicos, amoníaco y un aldehído. Haciendo reaccionar bencilo (43) con p-hidroxibenzaldehído (44) en exceso de amoníaco acuoso; a presión y temperaturas elevadas obtuvieron casi cuantitativamente el imidazol correspondiente (45).



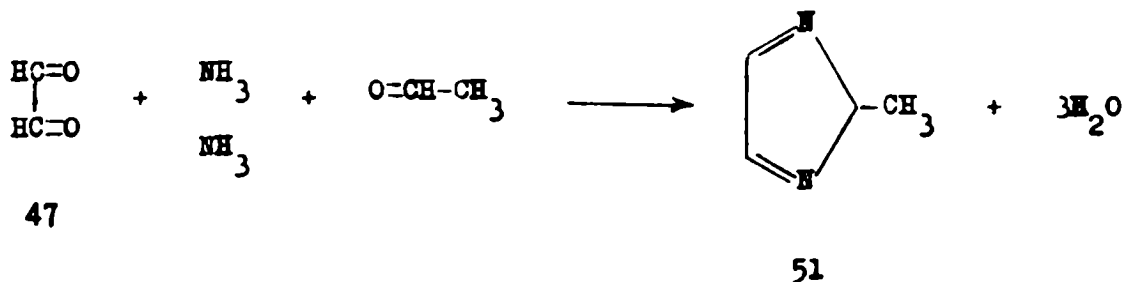
Asimismo Radziszewsky⁵³ describió la formación de imidazol (46) a partir de glioxal (47), amoníaco y formaldehído.



Cuando trató una solución alcohólica de benzoina (48) con amoníaco en presencia de benzaldehído (49) obtuvo la amarina, a la cual atribuyó la estructura 50.



El mismo autor⁵⁴ a partir de una solución de glioxal (47), amoníaco y acetaldehído obtuvo un compuesto imidazólico al que atribuyó la estructura 51.

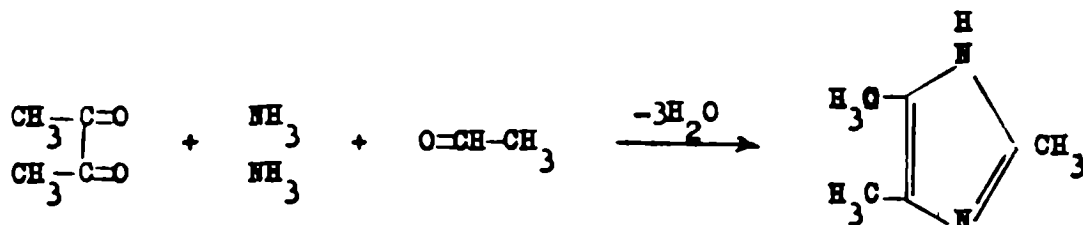


Cuando llevó a cabo la reacción con propanal en lugar de acetaldehído, obtuvo el 2-etilimidazol cristalino.

En 1888 von Pechmann⁵⁵, a partir de diacetilo (52) con amoníaco, en caliente, obtuvo un imidazol metilado (53). El autor explicó la reacción admitiendo, en un paso intermedio, la formación de acetaldehído.



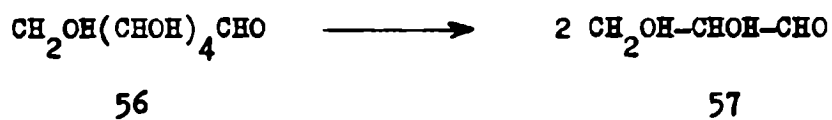
52



52

53

Windaus y Knoop⁵⁶ utilizaron un complejo fuertemente disociado de hidróxido de zinc y amoníaco, el cual reaccionó en frío con glucosa dando una base nitrogenada que se comportó como el 4(5)-metilimidazol (54) y que se obtuvo con un rendimiento del 10%. Esto indicaría que el aldehído pirúvico (55) sería un producto intermedio en la formación de 54. El primer producto de la degradación de la hexosa (56) sería el gliceraldehído (57) el cual por pérdida de agua daría aldehído pirúvico (55).



56

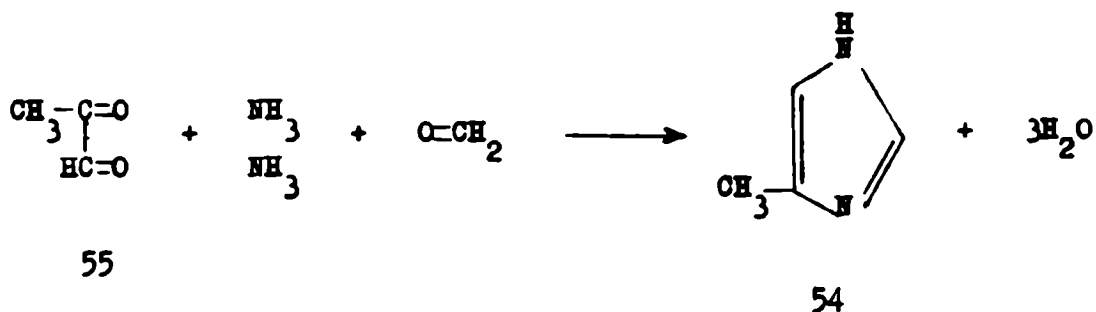
57



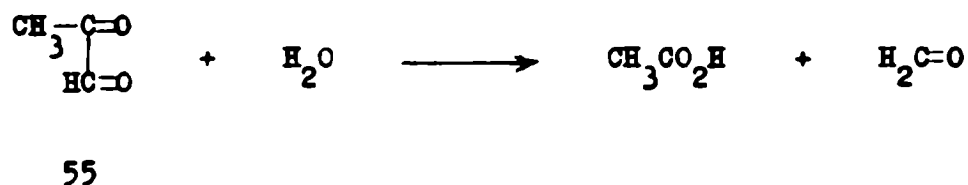
57

55

La síntesis debería entonces verificarse de la siguiente manera:



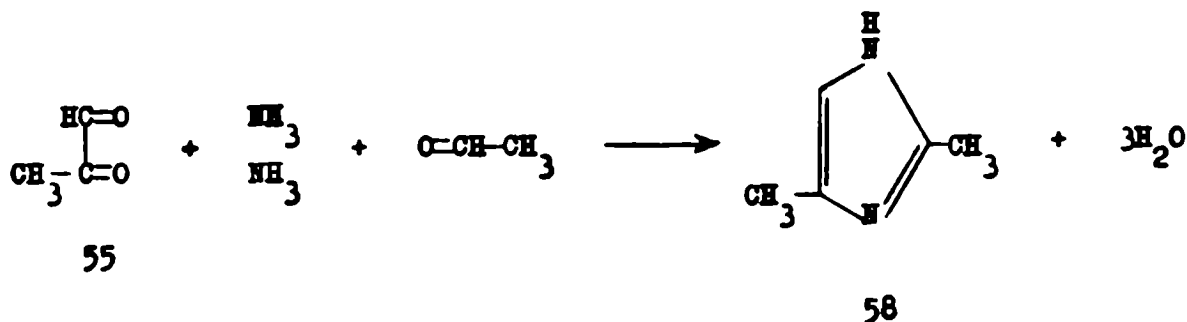
El formaldehído necesario para esta reacción podría ser un producto primario de degradación de la glucosa o un producto secundario obtenido a partir del aldehído pirúvico (55) que se degradaría a ácido acético y formaldehído.



Sin embargo, años después, Bernhauer⁵⁷ sometió el aldehído pirúvico (55) a la reacción con amoníaco e hidróxido de zinc y afirmó no haber detectado el 4(5)-metilimidazol (54) por lo que la capacidad de este intermediario para degradarse a formaldehído quedaría puesta en duda.

Windaus⁵⁸ llevó también a cabo la reacción de glucosa con hidróxido de zinc y amoníaco en presencia de acetaldehído y obtuvo el 2,4(5)-dimetilimidazol (58); nuevamente el aldehído pirúvico (55) sería un interme -

diario de la reacción. Este fue extraído por arrastre con vapor de agua de la mezcla de reacción de glucosa con sales amoniacales de zinc, después de acidificar la solución.



La reacción del hidróxido de zinc amoniacal⁵⁹ con D-glucosa, D-mannosa, D-fructosa, D-sorbose, L-arabinosa y L-xilosa dió en todos los casos el 4(5)-metilimidazol (54). Cuando se sometió la D-galactosa a la misma reacción se obtuvo un compuesto semejante al aislado previamente por Lobry de Bruyn y van Leent⁶⁰, el cual con hidróxido de zinc y amoníaco formó un complejo cuya fórmula sería $\text{C}_{12}\text{H}_{39}\text{O}_{16}\text{N}_3\text{Zn}$, que se creyó estaba constituido por galactosilamina, galactosilamina-amoníaco, agua e hidróxido de zinc: $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_5\text{N} \cdot \text{C}_6\text{H}_{16}\text{O}_5\text{N}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} \cdot \text{Zn}(\text{OH})_2$.

Se comprobó que este complejo se transformaba fácilmente en el derivado de zinc del 4(5)-metilimidazol (54).

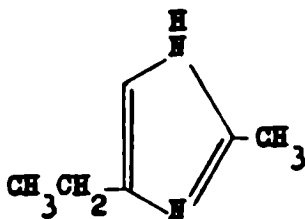
En esas condiciones experimentales⁵⁹ la ramnosa dió también el 4(5)-metilimidazol y además el 2,4(5)-dimetilimidazol (58), lo que sugería que entre los productos de degradación de la ramnosa se producían aldehído pirúvico (55), formaldehído y acetaldehído. La maltosa y la lactosa dieron 4(5)-metilimidazol con menor rendimiento que en el caso de las hexosas y pentosas. A partir de inositol no se obtuvo ningún compuesto imidazólico.

La rafinosa sometida al hidróxido de zinc amoniacal no dió ningún precipitado ni aún después de dos años de reacción. En general los azúca

res no reductores no dieron el 4(5)-metilimidazol (54) cuando se los sometió a la acción de este reactivo.

Por otra parte Inouye⁶¹ hizo reaccionar la D-galactosa y la L-arabinosa con óxido de zinc amoniacal por un período mayor de tiempo que Windaus⁵⁹ y obtuvo en ambos casos el 4(5)-metilimidazol (54).

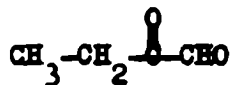
En 1914 Windaus y Ullrich⁶² describieron nuevamente la reacción de la ramosa con hidróxido de zinc amoniacal ampliando un estudio anterior⁵⁹ sobre los productos de la reacción. Aislaron el 4(5)-metilimidazol (54), el 2,4(5)-dimetilimidazol (58) y una tercera base de fórmula $C_6H_{10}N_2$, cuya estructura sería probablemente la del 2-metil-4(5)-etilimidazol (59).



59

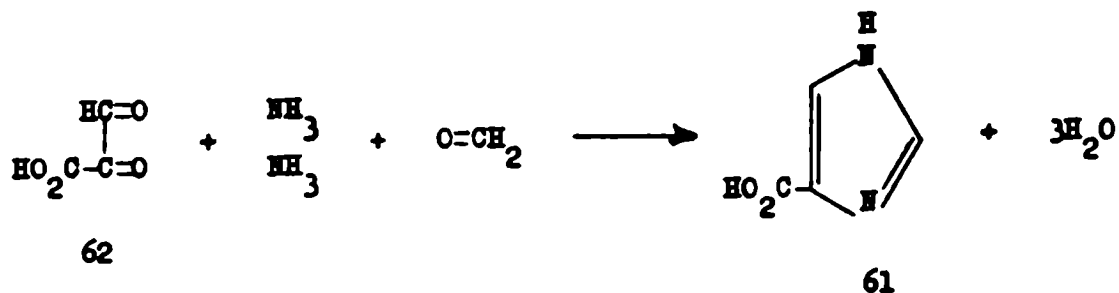
Se obtuvieron además dos productos nitrogenados de fórmula C_6H_7ON y $C_8H_{11}O_2N$ cuya estructura no fue determinada.

Los compuestos identificados en esta reacción evidenciarían que la ramosa se degrada a formaldehído, acetaldehído, aldehído pirúvico (55) y probablemente también a 2-ceto-butanal (60).

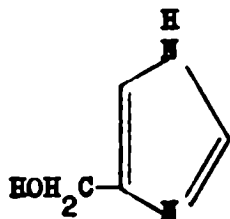


60

Los mismos autores⁶³ hallaron que la acción del hidróxido cúprico y del amoníaco, en ausencia de aire, sobre la glucosa producía ácido oxálico y ácido 4(5)-imidazolcarboxílico (61). Cabe suponer que la glucosa es oxidada por el hidróxido cúprico a ácido glicoxalcarboxílico hipotético (62) el cual se condensa con amoníaco y formaldehído dando el derivado 61.

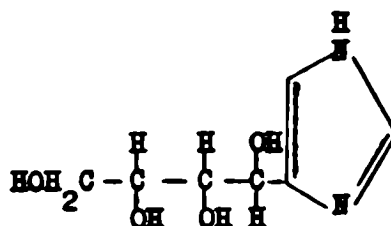


En 1930 Girard y Parrod⁶⁴, entre las experiencias realizadas para estudiar el pasaje del nitrógeno presente en los compuestos inorgánicos a las moléculas de importancia biológica, hicieron reaccionar fructosa con hidróxido cúprico amoniacal en presencia del oxígeno del aire. Entre los productos de reacción aislaron el 4(5)-hidroximetilimidazol (63) y ácido oxálico.



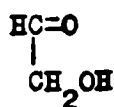
Completando la experiencia anterior Parrod⁶⁵ hizo reaccionar glucosa

y fructosa con soluciones de hidróxido cúprico amoniacal, haciendo circular a través de las mismas una corriente de aire; en ambos casos obtuvo ácido oxálico, imidazol (46) y 4(5)-(D-arabino-tetrahidroxibutil)imidazol (64). A partir de la glucosa no obtuvo el 4(5)-hidroximetilimidazol (63), el cual fue aislado de la reacción con la fructosa.

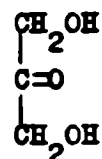


64

Los resultados obtenidos se interpretaron suponiendo una degradación del azúcar, que en el caso de la glucosa daría aldehído glicólico (65), en el caso de la fructosa aldehído glicérico (57) y dihidroxiacetona (66) y en ambos casos formaldehído.



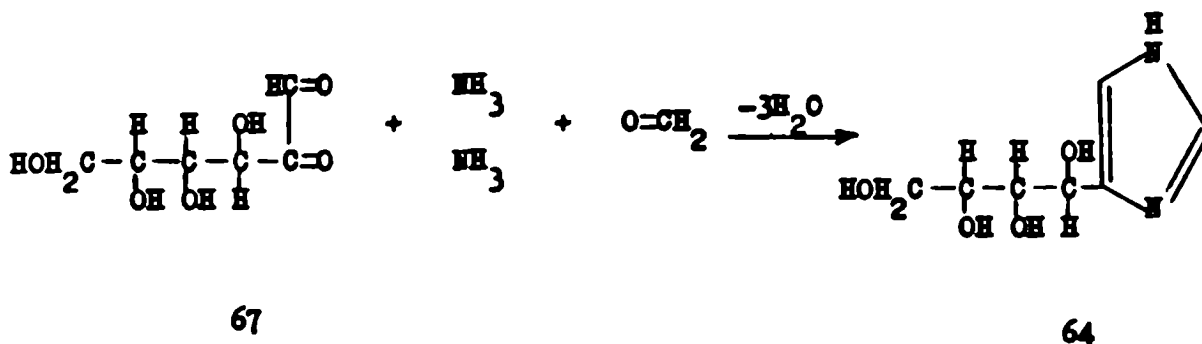
65



66

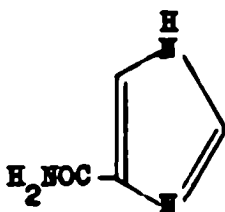
Además la oxidación del carbono vecino al grupo carbonilo de todas las aldosas y cetosas presentes, conduciría a compuestos dicarbonílicos que por condensación con amoníaco y formaldehído darían los correspondientes

imidazoles. Esta hipótesis fue confirmada por síntesis del 4(5)-(D-arabino-tetrahidroxibutil)imidazol (64) a partir de glucosona (67), amoníaco y formaldehído.



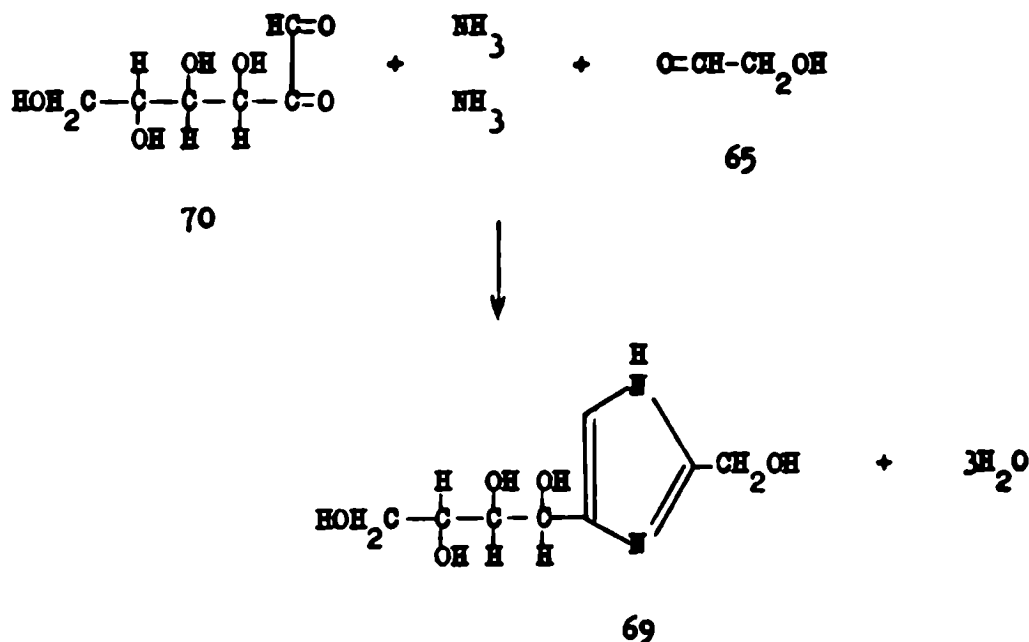
Parrod y Carreau⁶⁶ sometieron la D-manosa a las condiciones anteriores y aislaron los mismos compuestos que en el caso de la glucosa pero con rendimientos diferentes. Posteriormente estos autores⁶⁷ comprobaron que cuando la fructosa se trataba con carbonato de cobre amoniacal a pH 7,7, haciendo burbujear aire en la solución durante un mes, se formaba solamente ácido oxálico y 4(5)-hidroximetilimidazol (63).

En otra experiencia en la que se trató que las condiciones experimentales fueran semejantes a las condiciones biológicas, Parrod⁶⁸ hizo reaccionar la fructosa con azul de metileno en medio amoniacal y aisló el 4(5)-hidroximetilimidazol (63), el 4(5)-(D-arabino-tetrahidroxibutil)imidazol (64) y la 4(5)-imidazolformamida (68).



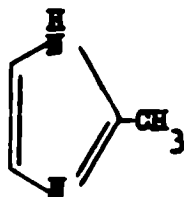
68

La reacción de la D-galactosa con óxido de cobre amoniacal en presencia de oxígeno⁶⁹ condujo a la formación de ácido oxálico, imidazol (46), 4(5)-(D-lixo-tetrahidroxibutil)imidazol, isómero del compuesto 64 y 2-hidroxi-4(5)-(D-lixo-tetrahidroxibutil)imidazol (69). Este último compuesto se formaría por la condensación de amoníaco, aldehído glicólico(65) y D-galactosona (70).



Las experiencias anteriores se completaron⁷⁰ con las reacciones de ramnosa, L-arabinosa, L-xilosa y dihidroxiacetona con óxido cúprico amoniacal en presencia del oxígeno del aire. Las pentosas produjeron ácido oxálico e imidazol (46).

La reacción con ramnosa dió ácido oxálico, 2-metilimidazol (71) y muy poco rendimiento de imidazol (46), mientras que en la reacción con dihidroxiacetona se aislaron trazas de ácido oxálico y de 4(5)-hidroximetilimidazol (63).



71

El hecho que no se obtuviera imidazol(46) en esta reacción podría atribuirse⁷¹ a que las cantidades de reactivos utilizados en la reacción eran pequeñas.

De los resultados obtenidos en estas investigaciones sobre la reacción de sales amoniacaes con hidratos de carbono, surgen las siguientes conclusiones generales⁷¹:

1. La formación de imidazoles proviene de la condensación de compuestos α -dicarbonílicos con amoniaco y un aldehido.
2. Estos compuestos α -dicarbonílicos se producirían por la oxidación de los correspondientes azúcares o de sus productos de ruptura en el medio amoniacal.

Parrod⁷² estudió también las transformaciones sufridas por la D-fructosa en presencia de amoniaco y de diferentes óxidos metálicos. Estas experiencias fueron realizadas respectivamente en ausencia y en presencia de una corriente de aire. Los productos obtenidos en ambos casos, expresados en gramos por 100 g de azúcar, se detallan en la Tabla II.

TABLA II

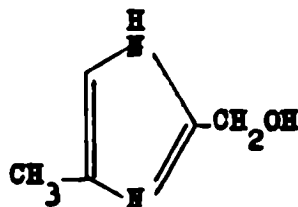
Relación molar: D-fructosa 1/4; amoníaco 16

OXIDO O SAL (moles/litros)	TIEMPO (dias)	EN AUSENCIA DE AIRE		CON CORRIENTE DE AIRE	
		a	b	a	c
sin metales	60	0,6			0,4
Zn(OH) ₂ , 1/2mol	60	10			
Ca(OH) ₂ , 2/5mol	60	0,4		0,7	
SO ₄ Fe, 1/10mol	60	2			0,2
(SO ₄) ₃ Fe ₂ , 1/20mol	50				1,2
SO ₄ Mn, 1/5mol	60	3	3		0,2

a: 4(5)-metilimidazol (54)

b: 2-hidroximetil-4(5)-metilimidazol (72)

c: 4(5)-hidroximetilimidazol (63)



72

En todas estas experiencias no se pudo obtener (contrariamente a lo que sucedió en el caso de usar sales de cobre), ácido oxálico, imidazol (46) y 4(5)-(D-arabino-tetrahidroributil)imidazol (64), pero en cambio se formó una gran cantidad de sustancias resinosas.

No obstante, parece poco probable que diferentes metales catalicen en forma específica la formación de determinados imidazoles, y estos resultados obtenidos por Parrod pueden explicarse por la falta, en esa época,

de técnicas eficientes de detección y aislamiento.

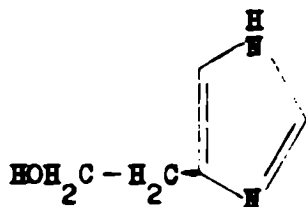
Posteriormente⁷³ la reacción de la fructosa con amoníaco en presencia de sales de cobre y formaldehído fue estandarizada como método para la síntesis del 4(5)-hidroximetilimidazol (63).

En 1935 Weidenhagen y Hermann⁷⁴ observaron que las α -hidroxiketonas por acción de soluciones de acetato cáprico amoniacal, eran oxidadas cuantitativamente a los correspondientes compuestos dicarbónílicos. Cuando esta reacción se llevó a cabo en presencia de un aldehído se formaron los respectivos imidasoles. Estos autores aislaron además el 4(5)-metilimidazol (54) a partir de glucosa o fructosa, amoníaco acuoso y formaldehído, utilizando hidróxido de zinc como catalizador, calentando a 90° y a una presión de 5 a 7 atmósferas⁷⁵. Este imidazol también fue identificado cromatográficamente por Hough, Jones y Richards entre los productos obtenidos a partir de D-glucosa⁷⁶ y melibiosa⁷⁷ con amoníaco acuoso a 37°.

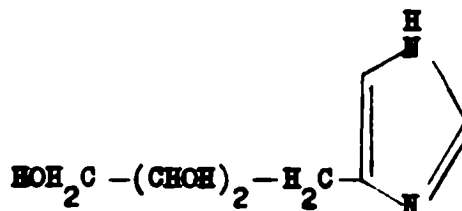
Con el fin de obtener un sustituto económico de las proteínas, Wiggins y Wise⁷⁸ hidrolizaron las melazas de caña de azúcar en medio ácido y por la solución neutralizada hicieron pasar amoníaco gaseoso. Mediante cromatografía en papel, se encontró, entre los productos nitrogenados obtenidos, sustancias con estructura imidasólica, de las cuales aislaron el 4(5)-metilimidazol (54).

Entre los estudios modernos en este campo se pueden mencionar los de Kamote⁷⁹, quien estudió los productos obtenidos por calentamiento de la D-glucosa en solución amoniacal. El autor identificó por cromatografía en papel: fructosa, manosa, glucosamina, diglucosilamina, ácido láctico y los siguientes compuestos imidasólicos: 4(5)-metilimidazol (54); 2-hidroximetil-4(5)-metilimidazol (72); 4(5)-(2-hidroxietil)imidazol (73); 4(5)-(2,3,4-trihidroxibutil)imidazol (74); 2,4(5)-dimetilimidazol (58) y un compuesto que probablemente tendría la estructura de 4(5)-(2,3-dihidroxipropil)imidazol (75), lo que fue

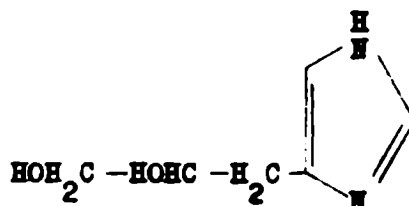
posteriormente confirmado por Fujii, Tsuchida y Komoto⁸⁰.



73



74

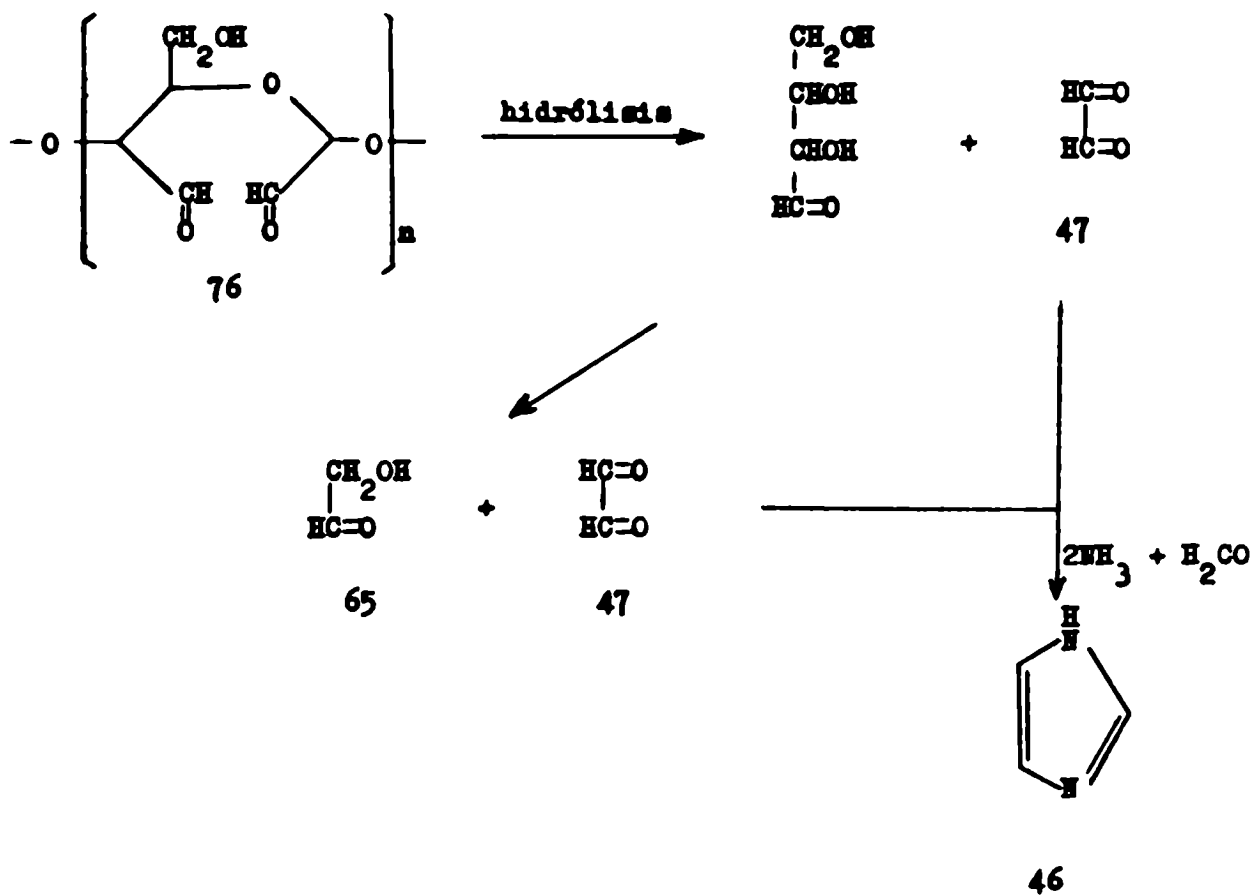


75

En 1963 Jesó⁸¹ demostró que se obtenía un alto rendimiento de compuestos nitrogenados (especialmente imidasoles y piracinas) a partir de sacarosa y amoníaco en presencia de cantidades catalíticas de cloruro de zinc y sulfato cáprico, aunque estas condiciones favorecían la formación de melaméidinas. Se realizó un estudio de la amonólisis de la sacarosa bajo diferentes condiciones de temperatura, concentración de los reactivos y cantidades de catalizador y se encontró que el mejor rendimiento de compuestos heterocíclicos nitrogenados se obtenía trabajando a 180° durante 18 horas y utilizando fosfato de amonio como catalizador. En ausencia de éste los mejores rendimientos se obtuvieron a 220°.

Asimismo Jesó y Lušák⁸² describieron la amonólisis de algunos oligosacáridos y polisacáridos a alta temperatura, con fosfato de amonio como catalizador. Partiendo del producto de oxidación del almidón con periodato

los autores trataron de explicar el mecanismo de la reacción suponiendo la hidrólisis del aldehído 76 a fragmentos de cuatro y de dos carbonos. Una posterior ruptura de la molécula de cuatro carbonos conduciría también a fragmentos de dos carbonos: glicoxal (47) y aldehído glicólico (65), los cuales por acción del amoníaco formarían el imidazol (46) (ver esquema VI)

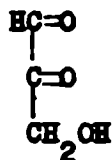


Esquema VI

En 1964 Grimmett y Richards⁶³ describieron la reacción del gliceraldehído (57) con solución de hidróxido de amonio al 5-6% a 37°. La solución se oscurecía rápidamente debido a la formación de melanoidinas. Entre los productos de reacción los autores identificaron: dihidroxiacetona (66),

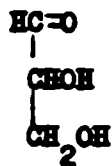
glucosa, fructosa, manosa, 4(5)-metilimidazol (54), 4(5)-hidroximetilimidazol (63), 4(5)-(2-hidroxietil)imidazol (73), 2-hidroximetil-4(5)-metilimidazol (72) y un compuesto, presente en baja concentración, que en papel se desplazaba como la ribosa.

Estos autores estudiaron la velocidad de formación de los compuestos imidazólicos y encontraron que el 4(5)-metilimidazol (54) y el 4(5)-hidroximetilimidazol (63) se formaban rápidamente. De ello se deduciría que, en las condiciones de la reacción, se obtendrían fácilmente formaldehído, aldehído pirúvico (55) y aldehído hidroxipirúvico (77) a partir de gliceraldehído (57) y amoníaco. Sin embargo Lento y colaboradores⁸⁴ encontraron que en soluciones buffer la glucosa, fructosa y dihidroxiacetona (66) no formaban aldehído pirúvico (55) en cantidades detectables a valores de pH mayores de 9. No obstante esto, Windaus⁵⁸ como se mencionó anteriormente (pág 25) aisló el aldehído pirúvico (55) de la mezcla de reacción de la D-glucosa con soluciones concentradas de amoníaco y sales de zinc.

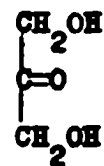


77

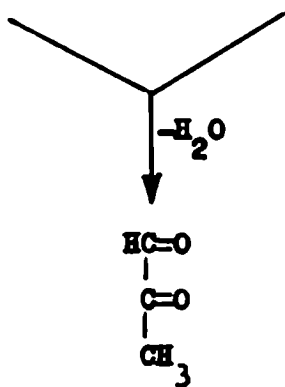
El aldehído pirúvico (55) resultaría de la deshidratación del gliceraldehído (57) o de su isómero la dihidroxiacetona (66).



57



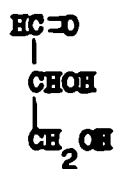
66



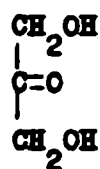
55

La condensación del aldehído pirúvico (55) con formaldehído y a moniaco conduciría al 4(5)-metilimidazol (54).

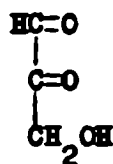
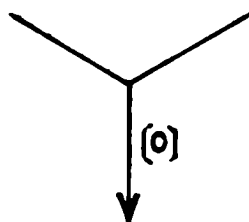
La oxidación del gliceraldehído (57) o la dihidroxiacetona (66) daría el aldehído hidroxipirúvico (77), el cual se condensaría con a moniaco y formaldehído para dar el 4(5)-hidroximetilimidazol (63).



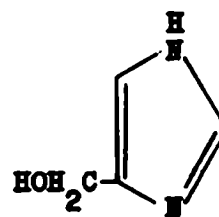
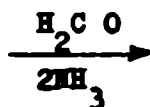
57



66

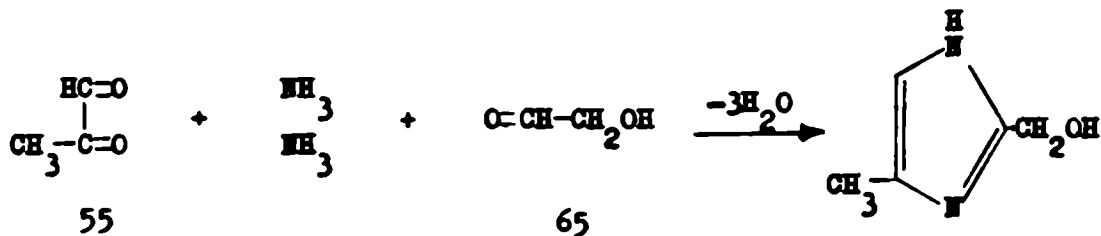


77



63

El 2-hidroximetil-4(5)-metilimidazol (72) se formaría por condensación del aldehído pirúvico (55) con amoníaco y aldehído glicólico (65).

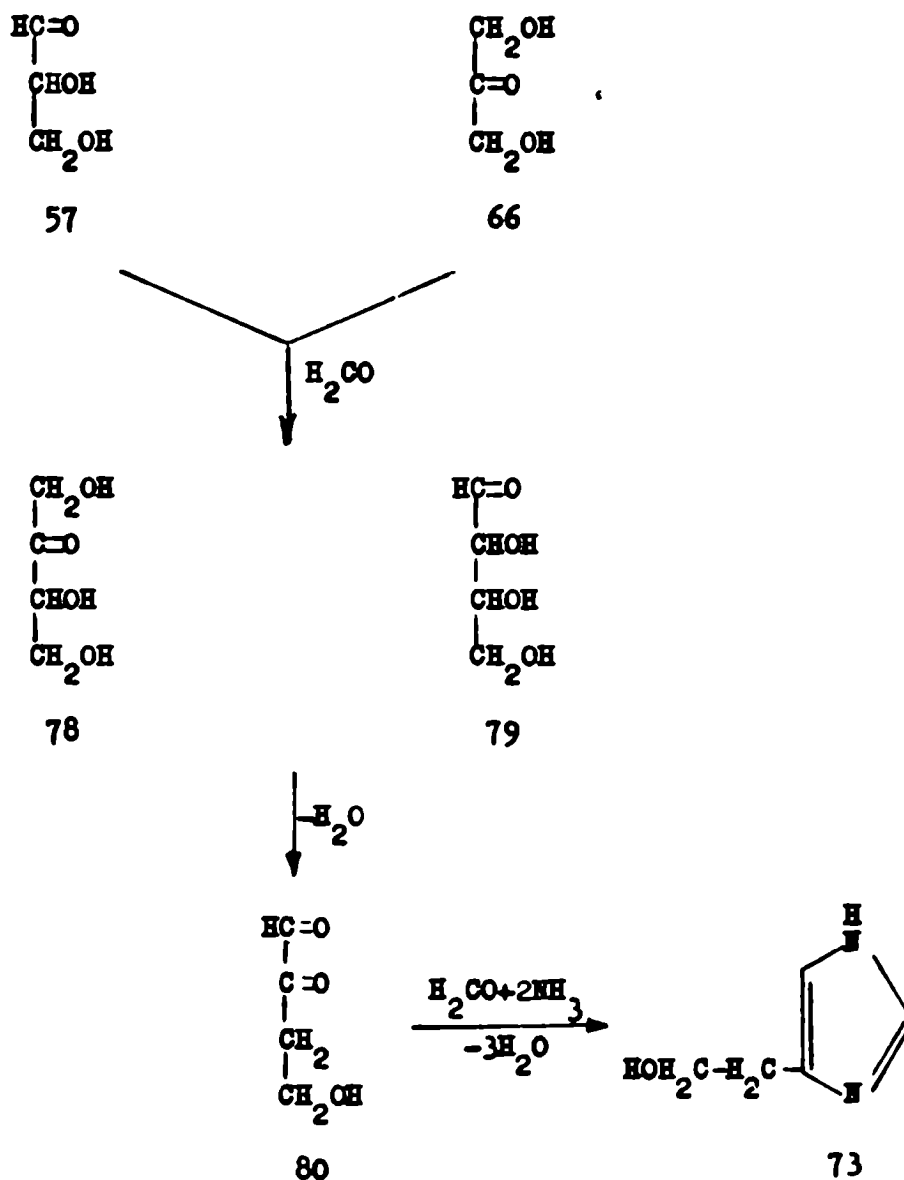


55

65

72

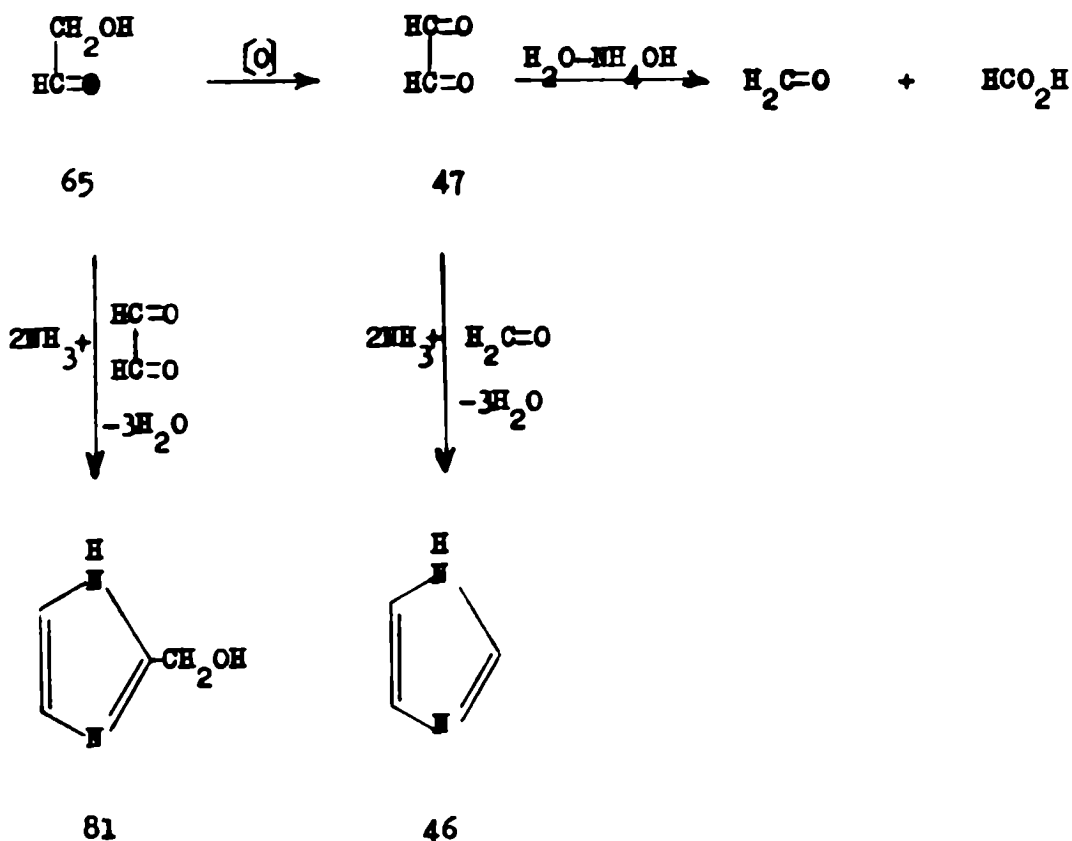
La formación del 4(5)-(2-hidroxietil)imidazol (73) se explicaría por la formación de tetrosas 78-79 obtenidas por condensaciones aldólicas entre el gliceraldehído (57) o la dihidroxiacetona (66) y el formaldehído. Estas tetrosas por pérdida de agua darían la correspondiente 3-desoxitetrosona (80) que se condensaría con formaldehído y amoníaco para dar el derivado imidazólico 73 (ver esquema VII).



Esquema VII

Grimmett y Richards⁸⁵ aislaron también compuestos imidásílicos a partir de soluciones amoniacales de aldehído glicólico (65) y aldehído hidroxipirúvico (77).

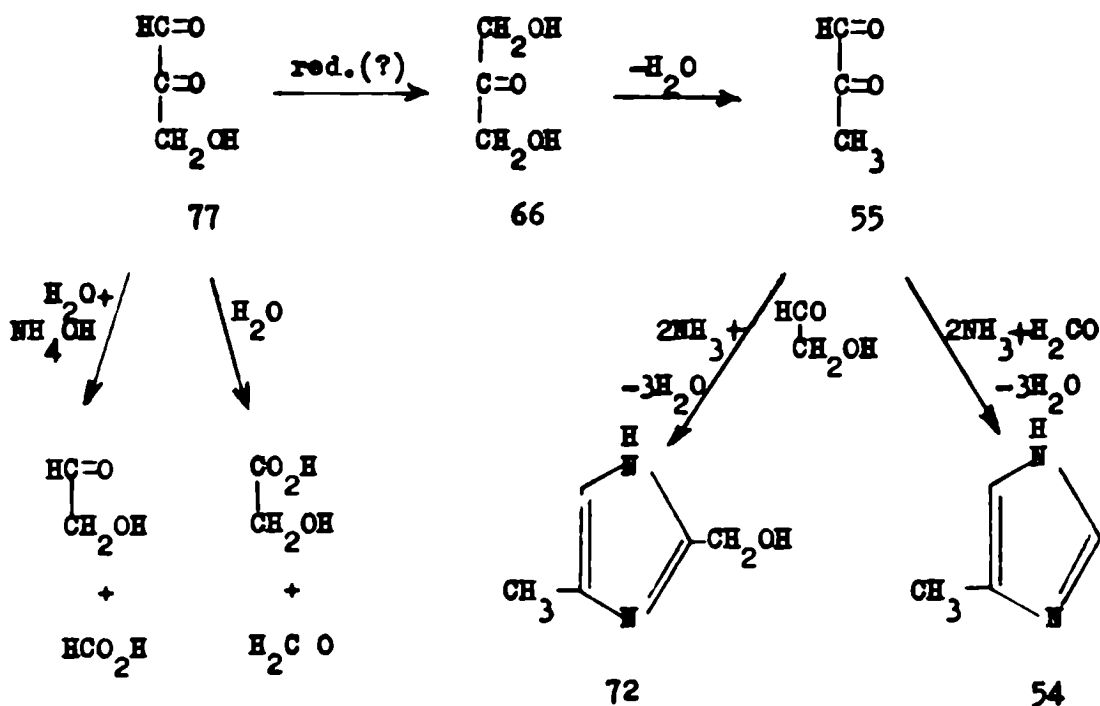
De la solución de aldehído glicólico (65) se obtuvo imidazol (46) y 2-hidroximetilimidazol (81). La formación de estos compuestos requería además la presencia de glicoxal (47) y formaldehído. Probablemente el glicoxal resultaría de la oxidación del aldehído glicólico (65), mientras que el formaldehído se formaría por ruptura alcalina del glicoxal (ver esquema VIII).



Esquema VIII

De la solución amoniacaal de aldehido hidroxipirúvico (77) se aislaron y caracterizaron el 4(5)-metilimidazol (54), el 2-hidroximetil-4(5)-metilimidazol (72) y el 4(5)-hidroximetilimidazol (63). Este último compuesto se formaría por reacción directa entre el aldehido hidroxipirúvico (77), el amoniaco y el formaldehido.

El mecanismo de formación del 4(5)-metilimidazol (54) y del 2-hidroximetil-4(5)-metilimidazol (72) no ha tenido explicación satisfactoria ya que ambos requieren aldehido pirúvico (55) como compuesto intermedio. Parece poco probable que esta sustancia pueda resultar de la reducción del grupo alcohólico primario del aldehido hidroxipirúvico (77) bajo las condiciones de la reacción. Un camino mas factible sería la reducción a dihidroxiaetona (66), posiblemente por una reacción de Cannizzaro y la posterior pérdida de agua (ver esquema IX).

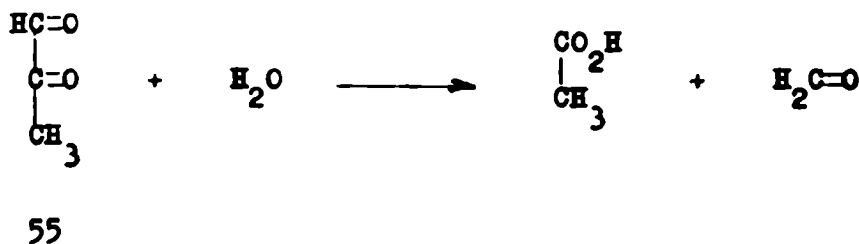
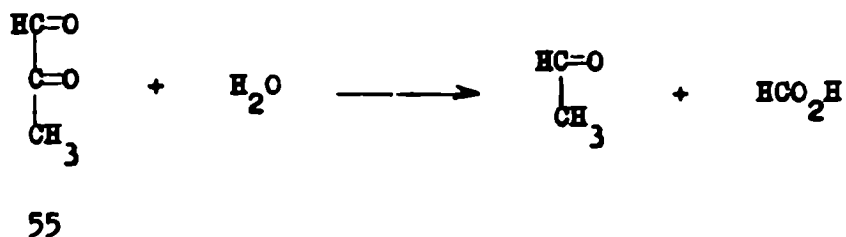


Esquema IX

Sin embargo, la formación significativa de dihidroxiacetona (66) solo puede considerarse hipotética ya que no hay pruebas de que el aldehido pirúvico (55) se genere a partir de ella en esta reacción con una velocidad satisfactoria como para explicar la formación del 4(5)-metilimidazol (54).

Debido a que Bernhauer⁵⁷ no detectó imidazoles en la reacción entre el aldehido pirúvico (55) y el amoníaco en presencia de hidróxido de zinc se dedujo que el aldehido pirúvico (55) no actuaría como fuente de formaldehido. Para corroborar estos resultados Grimmett y Richards⁸⁶ repitieron la reacción en ausencia de hidróxido de zinc y encontraron que se producían cantidades equimoleculares de 4(5)-metilimidazol (54) y 2,4(5)-dimetilimidazol (58).

Para explicar la formación de estos dos heterociclos, los autores supusieron que el aldehido pirúvico (55) reaccionaría con el agua para formar acetaldehido y formaldehido, surgiendo dos posibilidades (ver esquema X).



Esquema X

Mientras que en el sistema hexosa-amoniaco la mayor parte del formaldehído requerido para la formación del 4(5)-metilimidazol (54) provendría de la degradación directa de la molécula de hexosa, este trabajo indicaría que, contrariamente a lo expuesto por Bernauer⁵⁷ una parte del formaldehído resultaría de la ruptura de la molécula de aldehído piráxico.

Ayudado en estas experiencias Grimmett⁸⁷ postuló las posibles reacciones que conducirían a la formación de compuestos imidazólicos a partir de hexosas y amoniaco (ver esquema II).

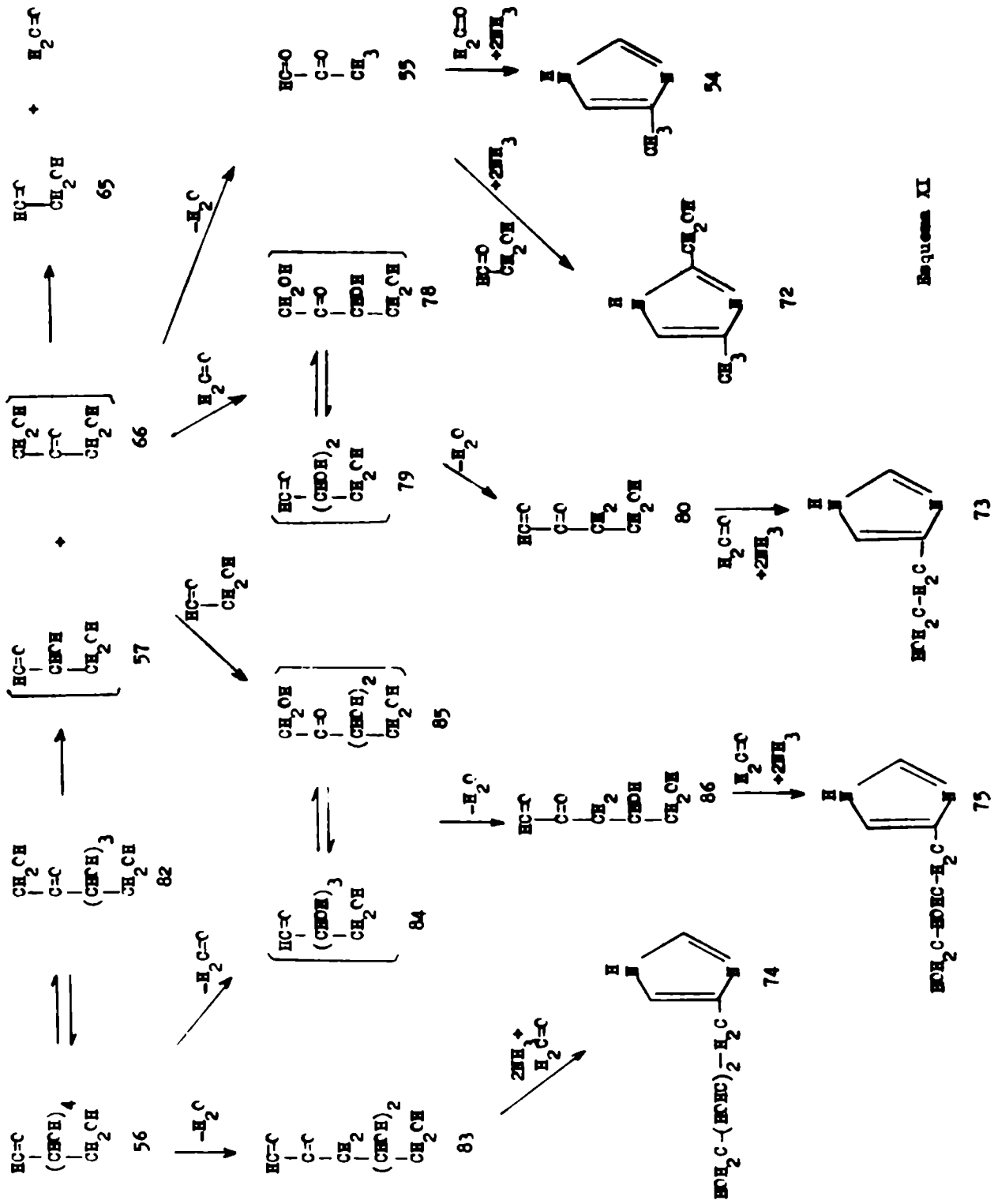
Una aldosa (56) en medio alcalino, sufriría la transposición de Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein⁸⁸ que conduce al equilibrio aldosa (56)-cetosa (82). Por una reacción retroaldólica de estos compuestos se obtendría gliceraldehído (57) y dihidroxiacetona (66) y una posterior desaldolización de estas sustancias conduciría a aldehído glicolico (65) y formaldehído.

En el medio de reacción la mezcla aldohexosa (56)-cetohexosa (82) en equilibrio se transformaría, por pérdida de agua, en la 3-desoxiosona (83) respectiva, la cual por condensación con formaldehído y amoniaco daría el 4(5)-(2,3,4-trihidroxibutil)imidazol (74).

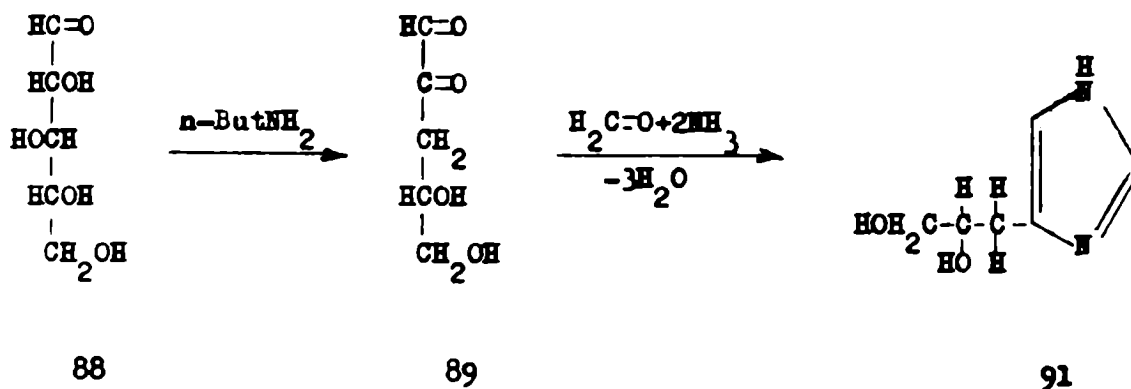
A su vez, ya sea por una reacción de desaldolización de las hexosas (56)-(82) o por una aldolización de las triosas (57)-(66) con aldehído glicolico (65) se obtendrían las respectivas aldopentosas (84) y cetopentosas (85), las que, como en el caso anterior darían la 3-desoxiosona (86). Por condensación de este compuesto con amoniaco y formaldehído se obtendría el 4(5)-(2,3-dihidroxipropil)imidazol (75).

La formación del 4(5)-metilimidazol (54), del 2-hidroximetil-4(5)-metilimidazol (72) y del 4(5)-(2-hidroxietil)imidazol (73) a partir de la mezcla en equilibrio: gliceraldehído (57)-dihidroxiacetona (66) fue anteriormente explicada⁸³ (pág. 36).

En 1966, Fujii, Tsuchida y Komoto⁸⁰ aislaron el 4(5)-(D,L-glicero-2,3-dihidroxipropil)imidazol (75) de la mezcla de reacción de D-glucosa

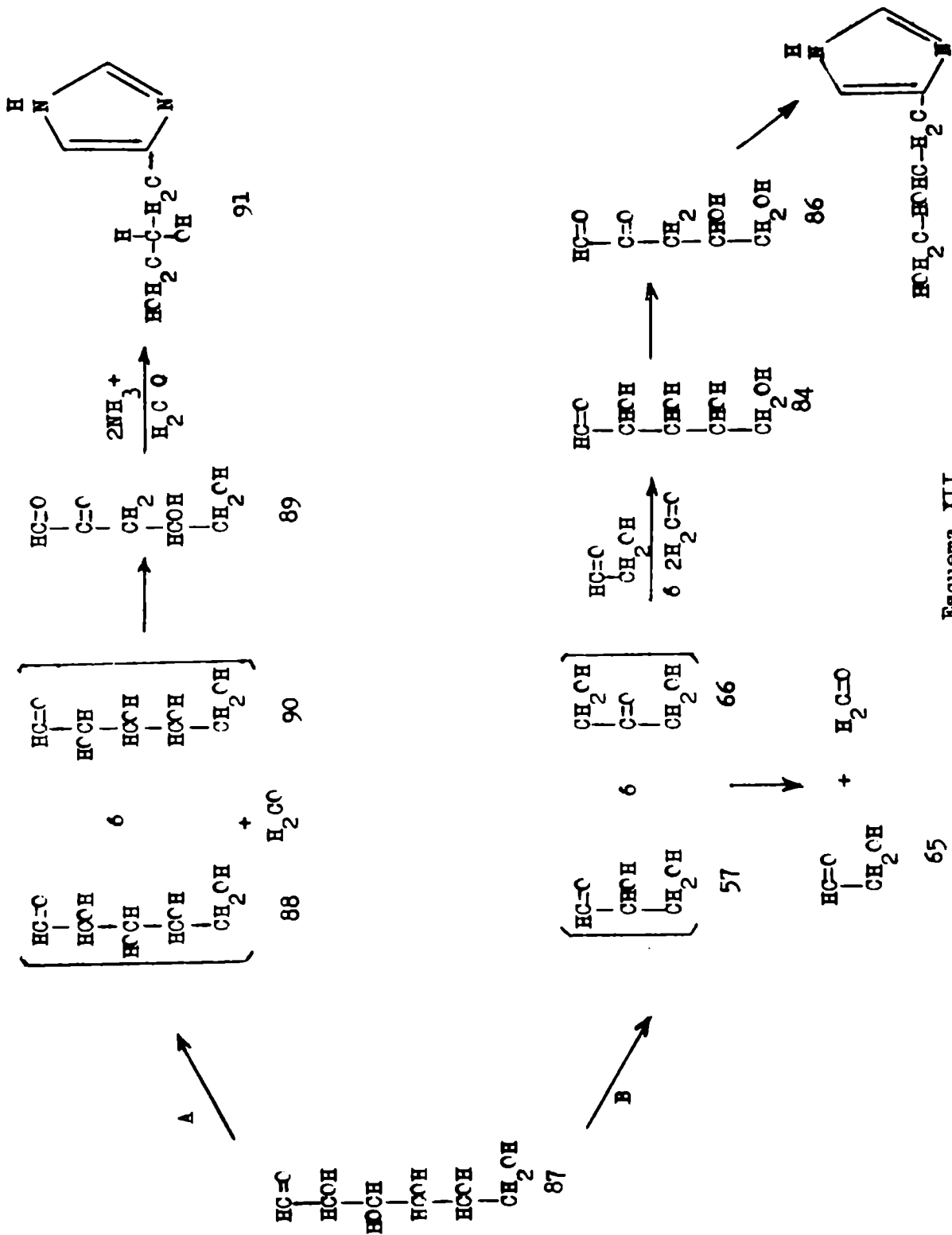


(87) y amoniaco acoso. Este compuesto (75) y el obtenido por los mismos autores mediante síntesis a partir de la D-xilosa (88) a través de la 3-desoxixilosa (89), presentaban el mismo espectro I.R. y el mismo valor de R_p , pero diferían en el poder rotatorio, pues mientras que el producto de la reacción no mostraba poder rotatorio, el compuesto obtenido por síntesis daba un $[\alpha]_D -22.3^\circ$.



Evidentemente el compuesto obtenido mediante la reacción de glucosa con amoniaco era una mezcla racémica y por consiguiente de los dos caminos posibles para su formación (A o B), el curso de la reacción no sería el A sino el B (ver esquema XII).

Si la reacción se hubiera verificado según el camino A, la glucosa (87) estaría sujeta a una fisión en la unión C-1-C-2 ó C-5-C-6. En cualquiera de los casos la pentosa resultante tendría la configuración D, es decir se obtendrían la D-xilosa (88) o la D-arabinosa (90) y la 3-desoxipentosa (89) formada a partir de la pentosa tendría la configuración D, al igual que el imidasol 91 obtenido mediante la condensación de la 3-desoxipentosa con amoniaco y formaldehido. El imidasol formado (91) tendría actividad óptica, obteniéndose el 4(5)-[D(-)-glicere-2,3-dihidroxi-propil]



Esquema XII

imidazol (91).

Es evidente que la pentosa se forma según el camino B, es decir, que el mecanismo de degradación de la glucosa involucraría una ruptura de la misma en dos fragmentos de triosa 66 ó 57, los cuales mediante una condensación aldólica con aldehído glicólico (65) o con dos moléculas de formaldehído producirían la D,L-pentosa (84), a partir de la cual, vía la 3-desoxipentosa (86) se formaría el 4(5)-(D,L-glicero-2,3-dihidroxipropil)imidazol (75).

Estos resultados confirmaban los ya obtenidos por Hough y Jones⁸⁹ quienes habían descrito la formación de los isómeros D,L de las cuatro pentosas a partir de aldehído glicólico (65) y gliceraldehído (57) en medio alcalino. Además, Kemoto⁹⁰ calentando gliceraldehído o dihidroxiacetona con amoníaco acuoso, identificó el 4(5)-(2-hidroxietil)imidazol (73). Este último hecho sugería la formación de una tetrosa en la mezcla de reacción por condensación de la triosa con el formaldehído obtenido por degradación de la misma.

La formación de imidazoles podría ser utilizada para postular el tipo de unión glicosídica en ciertos disacáridos.

Grimmett y colaboradores⁹¹ hicieron reaccionar disacáridos con unión 1-2 (soforosa), 1-3 (turanosa, laminaribiosa), 1-4 (maltosa, celobiosa, lactulosa, lactosa) y 1-6 (melibiosa, genciobiosa, isomaltosa, isomaltulosa) con una solución acuosa de amoníaco e indicaron los valores de $R_{imidazol}$ obtenidos por cromatografía en papel (ver Tabla III).

TABLA III

Tipo de unión		R_{imidazol}	
1-2	—	—	—
1-3	0.63(F)	—	1.28(M)
1-4	—	0.74(F)	1.28(D)
1-6	—	—	1.28(F)

D: intensidad débil

M: intensidad media

F: intensidad fuerte

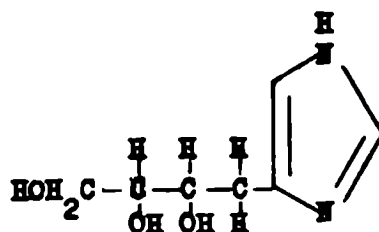
Es destacable que los disacáridos con unión 1-2 no dieron imidazoles mientras que en todos los casos restantes se obtuvo, entre otros imidazoles no identificados, el 4(5)-metilimidazol (54) de $R_{\text{imidazol}} 1,28$.

La presencia del 4(5)metilimidazol (54), algunas veces solo en trazas, entre los productos de reacción de todos los disacáridos reductores con amoníaco, es explicable mediante la hipótesis de que el amoníaco reacciona con un intermediario dicarbonílico, que en este caso sería el aldehído pirúvico (55).

Los autores comprobaron también que los disacáridos no reductores como la sacarosa, la trehalosa y el melibitól no daban compuestos imidazólicos en las condiciones de la reacción.

Hasta ahora se ha discutido la formación de imidazoles a través de mecanismos que implicaban primordialmente la ruptura del hidrato de carbono en fragmentos de más bajo peso molecular. Sin embargo esto no siempre sucede totalmente, y se han realizado experiencias que permiten suponer reordenamientos dentro de la molécula.

Así, Grimmett y colaboradores⁹² estudiaron la acción del amoníaco sobre las hexosas sustituidas en el C-3. Hicieron reaccionar la 3-desoxi-D-glucosona (3-desoxi-D-eritro-hexosulosa), la 3-O-metil-D-glucosa y la turanosa (3-O- α -D-glucopiranosil-D-fructosa) con amoníaco acuoso y obtuvieron como producto principal de la reacción el 4(5)-(D-eritro-2,3,4-trihidroxibutil)imidazol (92).



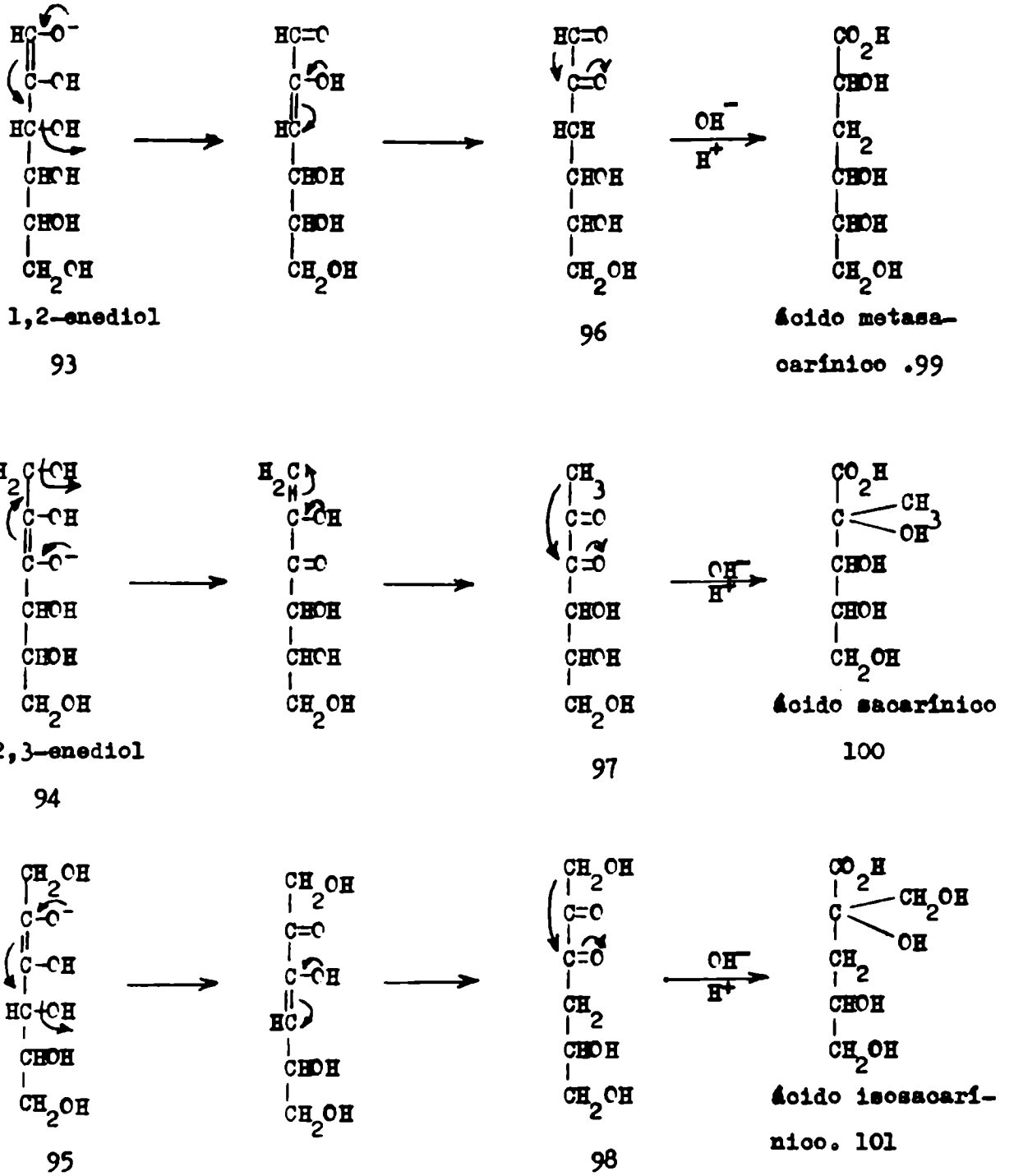
92

Para la determinación de la estructura de esta sustancia se emplearon métodos espectroscópicos y la oxidación con peryodato confirmó esa estructura. Su configuración surge de la ya establecida para los azúcares de partida.

Podría esperarse que la acción del amoníaco sobre hexosas que forman oligosacáridos reductores muestre inicialmente un paralelo con la acción de los álcalis sobre los mismos, la cual causa epimerización, reordenamientos y en algunos casos degradación de la parte reductora de la molécula. Entre los productos de reacción de los álcalis sobre hexosas sustituidas se encuentran los ácidos sacarínicos cuya estructura depende de la posición del sustituyente en la hexosa original.

El mecanismo mas ampliamente aceptado para la formación de ácidos sacarínicos es el sugerido por Isbell⁹³ quien postuló los siguientes pasos (ver esquema XIII).

A) formación de un enediol iónico (93), (94), (95).



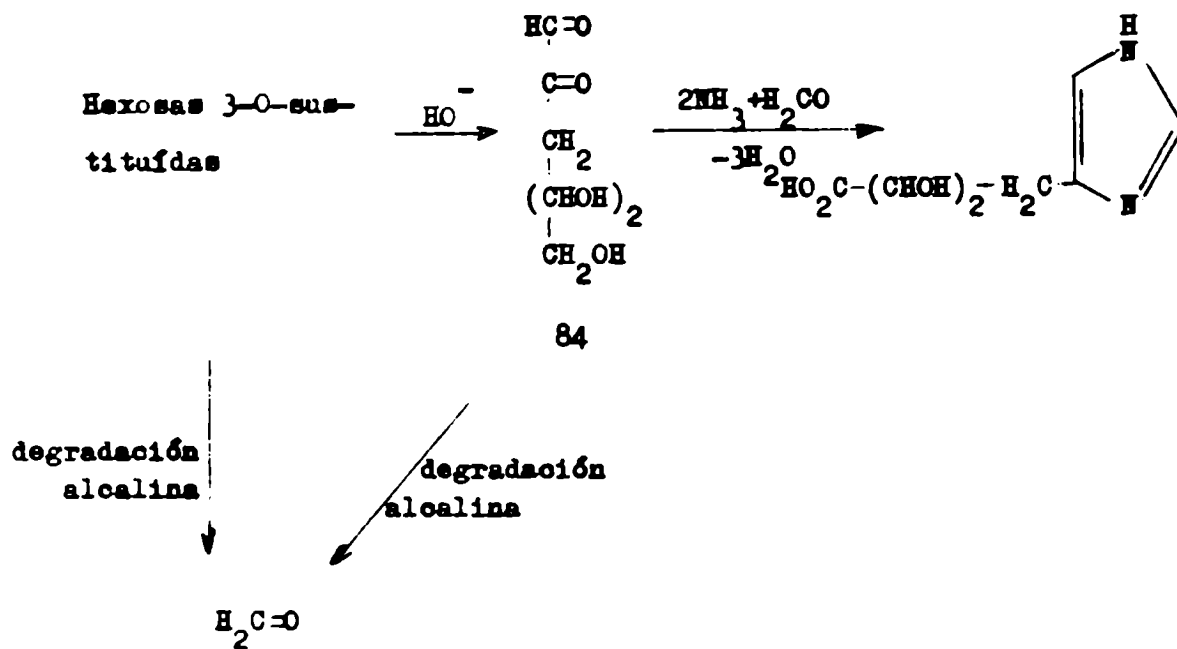
Esquema XIII

- B) β -eliminación de un anión hidroxilo o alcoxilo..
- C) reordenamiento que conduce a la formación de un compuesto α -dicarbonílico intermedio (96), (97), (98).
- D) reordenamiento del tipo ácido benzoílico para dar los diferentes ácidos sacarínicos (99), (100), (101).

Los datos experimentales demuestran que el mecanismo propuesto es acertado, ya que el tratamiento con álcalis de la fructosa 1-O-sustituída ha producido sacarínatos⁹⁴, mientras que las aldosas 2-O-sustituídas, como la 2-O-(D-xilopiranosil)-L-arabinosa, no dieron ácidos sacarínicos.⁹⁵ Además a partir de la 3-O-metil-D-glucosa⁹⁶ o la turanosa⁹⁷ se obtuvieron metasacarínatos, mientras que los azúcares 4-O-sustituídos, como la lactosa⁹⁸, la celobiosa, la celotetraosa y la celobiososa⁹⁹ dieron isosacarínatos. Los azúcares 6-O-sustituídos como la melibiosa y la gencibiosa, que no eliminaban un ión alcoxilo, daban una mezcla de ácidos sacarínicos y ácido láctico^{100,101}.

Estas experiencias demostraron que la presencia de un sustituyente puede dirigir la degradación alcalina del hidrato de carbono ya que la eliminación del ión O-alquilo u O-glicosilo es más rápida que la del ión hidroxilo.

En base a estos resultados podría esperarse que en solución amoniacal la formación de ácidos sacarínicos pueda detenerse en el paso del compuesto dicarbonílico y este intermediario se condensaría con amoníaco y formaldehído para dar imidasoles según el esquema XIV.



Esquema XIV

Como confirmación de esta teoría, Grimmett y colaboradores⁹² encontraron que la soforosa (2-O-β-D-glucopiranosil-D-glucopiranososa) no daba imidasoles al reaccionar con amoníaco acuoso. Además el hecho que estos autores hayan aislado el 4(5)-(D-eritro-2,3,4-trihidroxibutil)imidazol (92) cuando partieron de hexosas sustituidas en el C-3, corrobora el mecanismo enunciado.

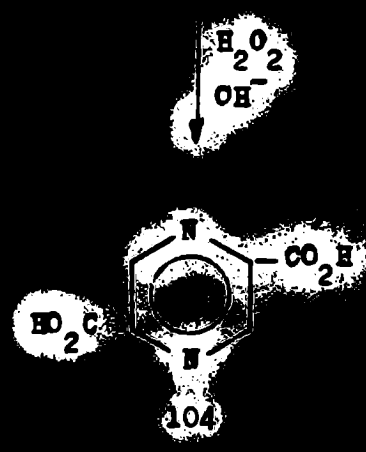
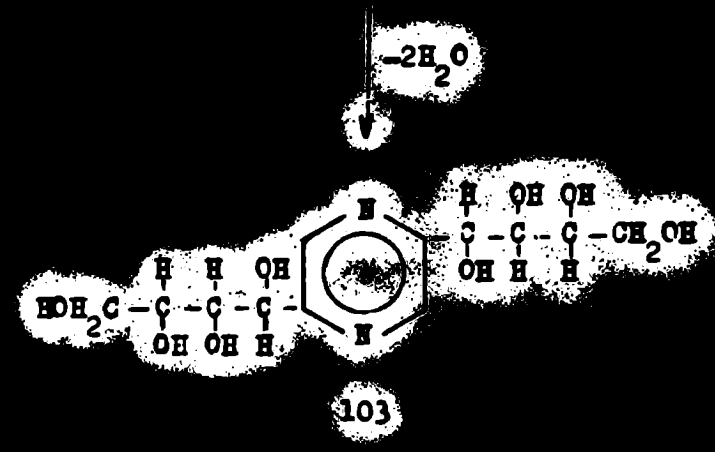
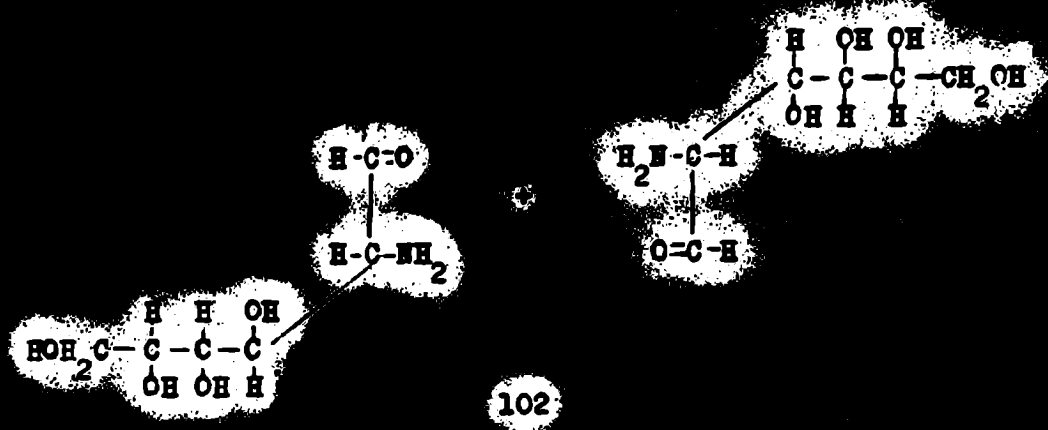
Formación de piracinas.

En este campo los estudios más importantes y completos se realizaron a partir de 1952. Existe sin embargo, un pequeño número de trabajos anteriores en los cuales se describe el aislamiento de algunas piracinas, pero no se realizaron estudios estructurales y la identificación de estas sustancias no es del todo clara. Es así que en 1882 Scichilone y Denare¹⁰² obtuvieron por destilación de una mezcla de manitel y cloruro de amonio un derivado piracínico de fórmula $C_6H_8N_2$ al que llamaron manitina. Tannet¹⁰³ por calentamiento de glucosa y amoniaco acuoso obtuvo dos diacinas que denominó α -glucosina, a la que atribuyó la fórmula $C_6H_8N_2$ y β -glucosina, cuya fórmula fue $C_7H_{10}N_2$. El autor no dió ninguna idea acerca de la estructura de estas sustancias, aunque posteriormente observó¹⁰⁴ que la β -glucosina coincidía en su fórmula y propiedades con una diacina obtenida por Morin¹⁰⁵ a partir de los productos de la fermentación alcohólica.

En 1896 Brandes y Stoehr¹⁰⁶ afirmaron que las glucosinas pertenecían a la serie de las piracinas. La α -glucosina no tendría la fórmula $C_6H_8N_2$ sino que sería una monometilpiracina de fórmula $C_5H_6N_2$ y la β -glucosina podría ser una trimetilpiracina. Los autores aislaron estos compuestos junto con piridina y piracina, haciendo reaccionar amoniaco acuoso con la D-glucosa.

Lobry de Bruyn^{107,108}, a partir de la D-fructosa con amoniaco metanólico obtuvo un precipitado cuyas constantes físicas coincidieron con las de la fructosacina (103). Stolte¹⁰⁹, a partir de glucosamina (102) obtuvo el mismo compuesto al cual denominó levulosacina. La oxidación de esta sustancia condujo al ácido 2,5-piracindicarboxílico (104); por consiguiente se formaría de la manera indicada en el esquema XV.

Maurer y Schiedt¹¹⁰ redujeron la D-glucosazona en suspensión en



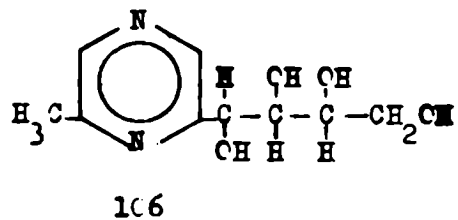
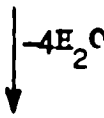
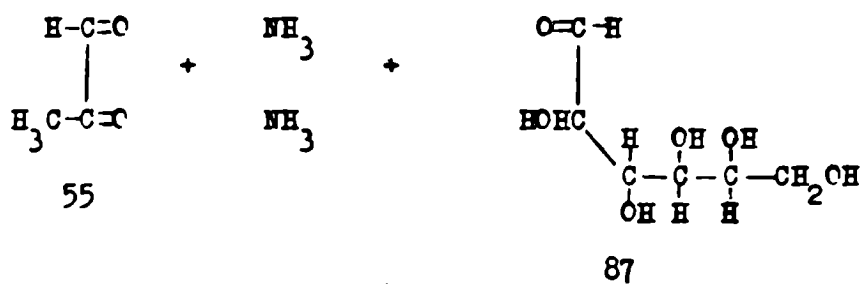
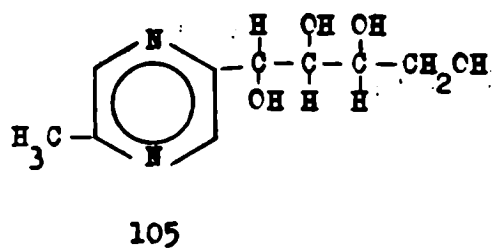
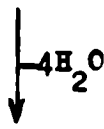
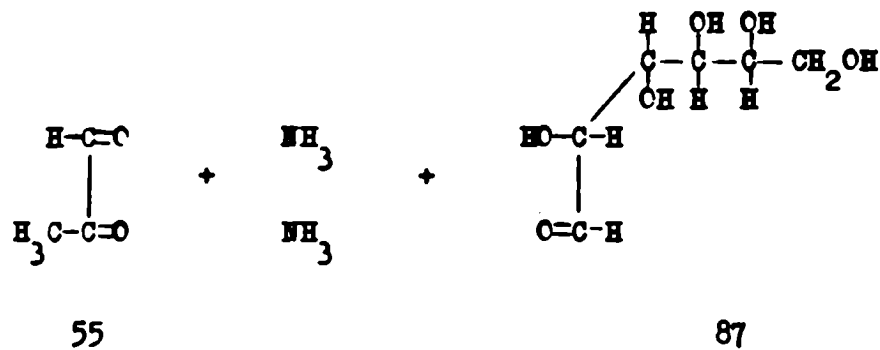
Esquema XV

ácido acético, utilizando hidrógeno-paladio y obtuvieron el acetato de 1-desoxi-1-amino-D-fructosa. Cuando trataron de liberar la base correspondiente con dietilamina se produjo la fructosacina (103).

En 1952 Hough, Jenes y Richards⁷⁶ por reacción de la D-glucosa con amoníaco acuoso a 37° durante dos semanas, aislaron dos compuestos cristalinos: la 2-metil-5-(D-arabino-tetrahidroxibutil)piracina (105) y la 2-metil-6-(D-arabino-tetrahidroxibutil)piracina (106). Como estos compuestos provenían de la D-glucosa, a la cadena lateral tetrahidroxibutilica se le asignó una configuración D-arabina. Los autores supusieron que estos derivados piracínicos se formarían por la condensación de la glucosa con amoníaco y el aldehído pirúvico (55) obtenido como producto de la degradación de la glucosa (ver esquema XVI).

En un estudio tendiente a buscar una aplicación práctica, como fuente de alimento para ganado, a la reacción del amoníaco con hidratos de carbono Wiggins y Wise⁷⁸ hidrolizaron la melaza de caña de azúcar con ácido sulfúrico, neutralizaron la solución con hidróxido de sodio e hicieron pasar luego amoníaco gaseoso. El examen polarográfico del producto de reacción reveló la presencia de ondas polarográficas similares a las de los derivados metilados de piracinas. De una de las fracciones de la mezcla de reacción se aisló un compuesto cuya estructura no fue determinada, que probablemente sería hidroximetilpiracina. Además el espectro de absorción ultravioleta de las fracciones con actividad polarográfica presentaba analogías con los espectros ultravioleta de derivados piracínicos.

Kuhn y colaboradores¹¹¹ a partir de una suspensión del acetato de la 1-desoxi-1-amino-D-fructosa, en metanol en presencia de dietilamina y con corriente de aire aislaron la fructosacina [2,5-bis-(D-arabino-tetrahidroxibutil)piracina] (103), después de dos horas de re



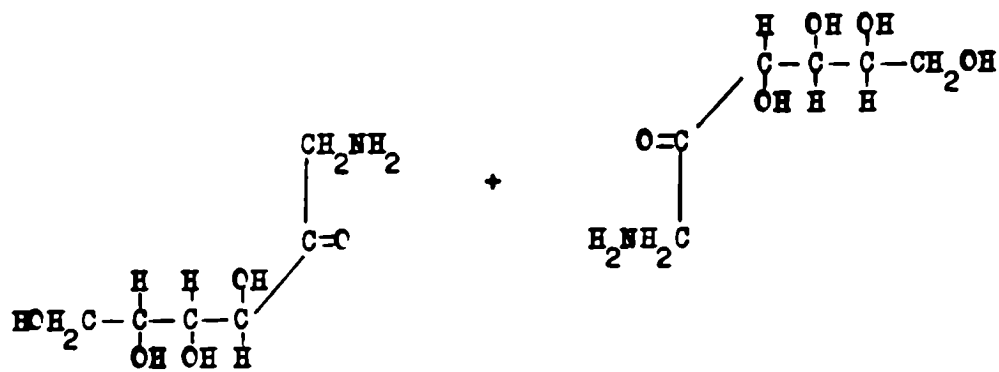
Esquema XVI

acción, con rendimiento del 26%. Se interpretó su formación considerando que a partir de la 1-desoxi-1-amino-D-fructosa (107) se formaría primero la dihidropiracina (108), con dos grupos metileno en el anillo heterocíclico, el cual por acción del oxígeno atmosférico se deshidrogenaría dando fructosacina (103) (ver esquema XVII). Esta fructosacina (103) por hidrogenación catalítica y posterior hidrólisis ácida dió solo 1-desoxi-1-amino-D-fructosa (107).

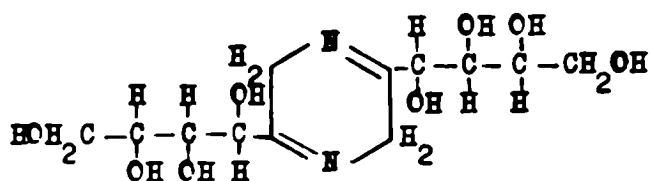
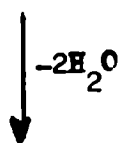
Los mismos autores, por calentamiento de una solución de 2-desoxi-2-amino-D-glucosa (102) en ácido acético, obtuvieron la 2-(D-arabino-tetrahidroxibutil)-5-(D-eritro-2,3,4-trihidroxibutil)piracina o desoxifruetosacina (109). En este caso, la 2-desoxi-2-amino-D-glucosa (102) habría formado una dihidropiracina 110 isómera de la 108 pero que no poseía grupos metileno, sino un átomo de hidrógeno en cada uno de los carbonos terciarios del heterociclo, lo que facilitaría la pérdida de una molécula de agua dando un compuesto 111 que se estabilizaría para formar el núcleo aromático de la desoxifruetosacina (109) (ver esquema XVIII). El curso diferente de las reacciones de formación de fructosacina (103) y de desoxifruetosacina (109) sería debido entonces a las estructuras isómeras de la dihidropiracina inicialmente formada. La dihidropiracina 108 sería más susceptible a una deshidrogenación, que a una deshidratación, mientras que la dihidropiracina 110, por tener un grupo hidroxilo en posición α a la unión C-N, daría fácilmente una reacción de deshidratación.

Por hidrogenación catalítica y posterior hidrólisis ácida de la desoxifruetosacina (109), se aislaron cantidades equimoleculares de 1-desoxi-1-amino-D-fructosa (107) y 1,3-didesoxi-1-amino-D-fructosa (112), cuya p-nitrofenilosazona (113) fue idéntica a la obtenida a partir de la 3-desoxi-D-glucosa (ver esquema XIX).

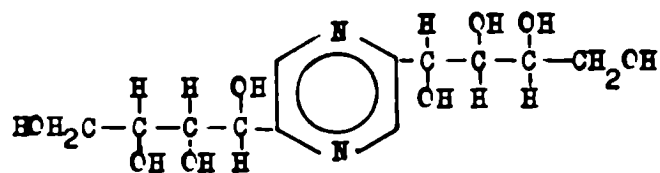
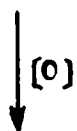
Taha¹¹² aisló entre los productos de la reacción de amoníaco acuoso



107

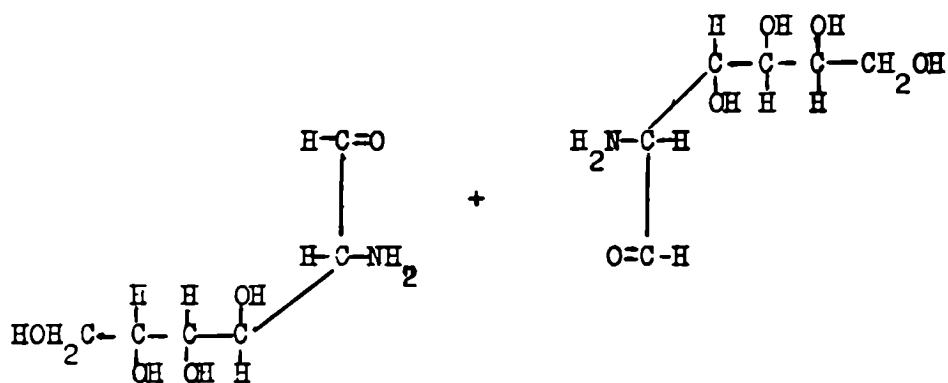


108

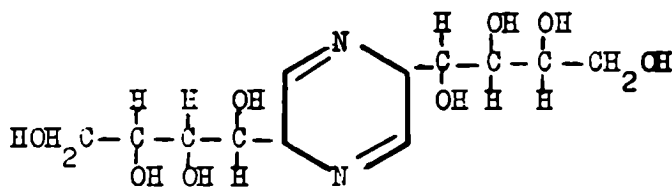
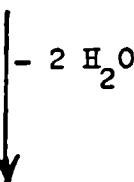


103

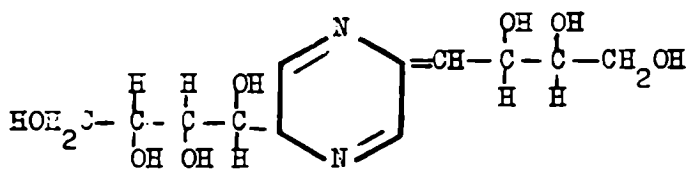
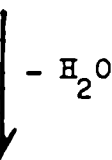
Esquema XVII



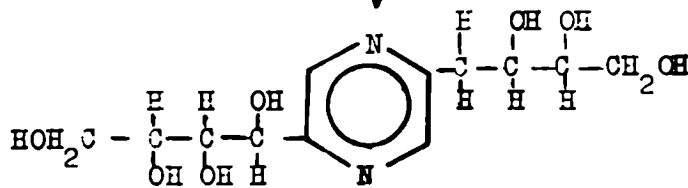
102



110

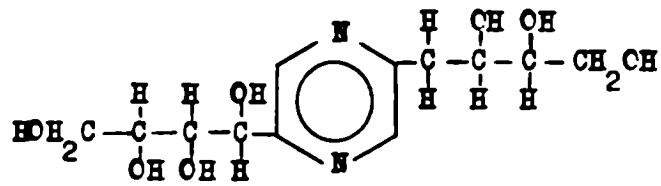


111

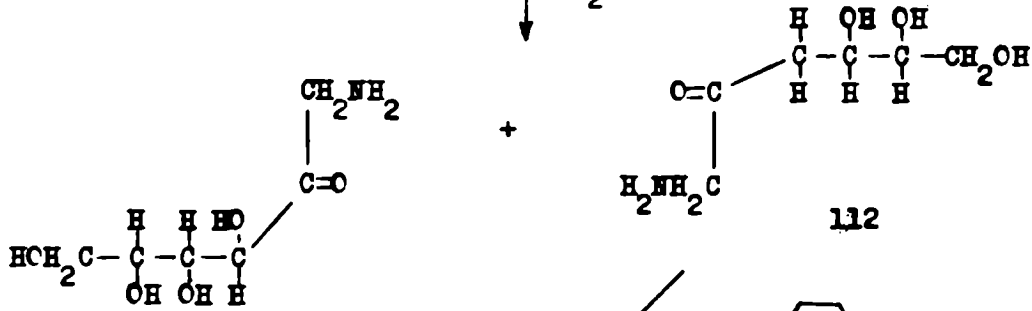
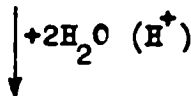
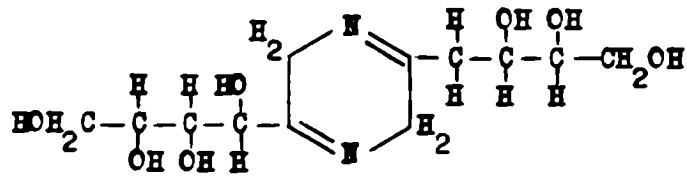
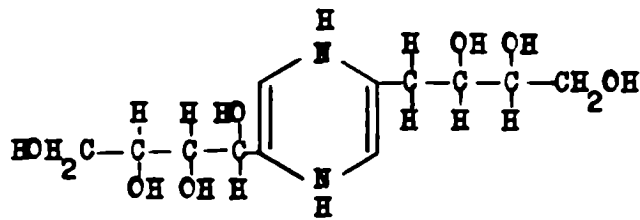
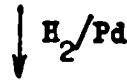


109

Esquema XVIII

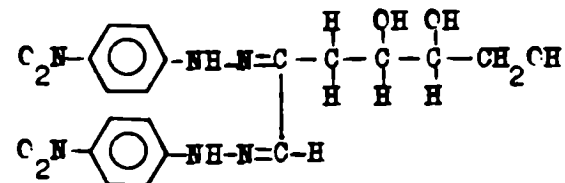
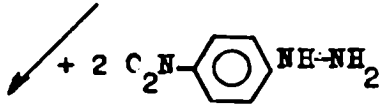


109



107

112



113

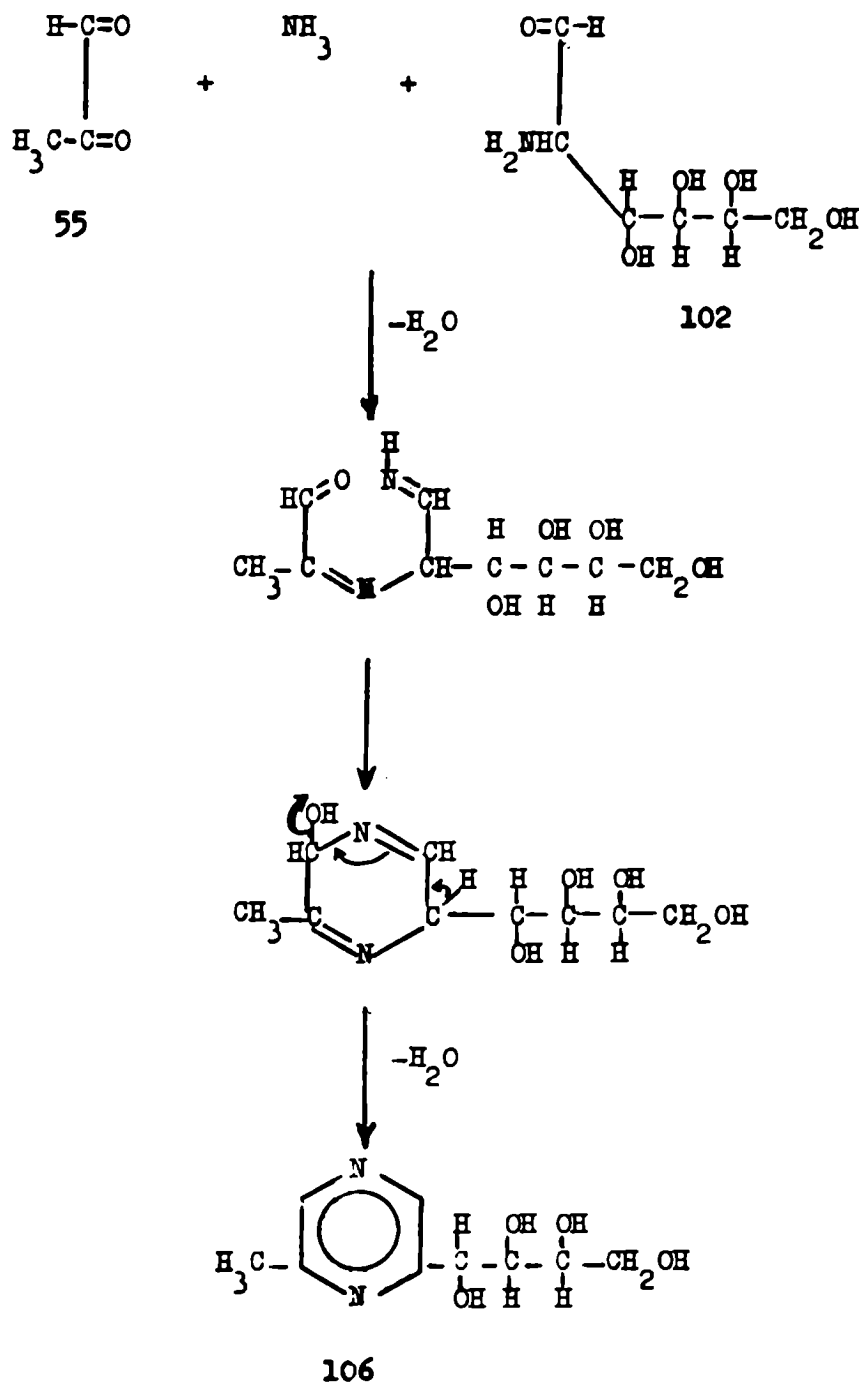
Esquema XIX

so sobre el clorhidrato de D-glucosamina, la 2-metil-6-(D-arabino-tetrahidroxibutil)piracina (106); la 2-metil-5-(D-arabino-tetrahidroxibutil)-3-(D-eritre-trihidroxipropil)piracina (114) y la 2,5-bis-(D-arabino-tetrahidroxibutil)piracina (fructosacina, 103). La reacción se realizó a temperatura ambiente y durante un período de seis meses. La 2-metil-6-(D-arabino-tetrahidroxibutil)piracina (106) había sido obtenida por Hough et alia⁷⁶ mediante una reacción similar de la D-glucosa con amoníaco acuoso. Taha¹¹² propuso el mecanismo de formación detallado en el esquema XX.

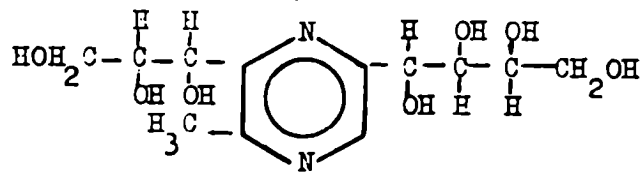
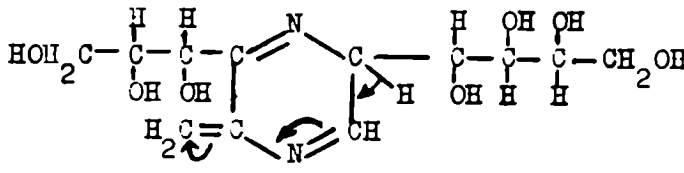
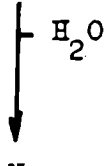
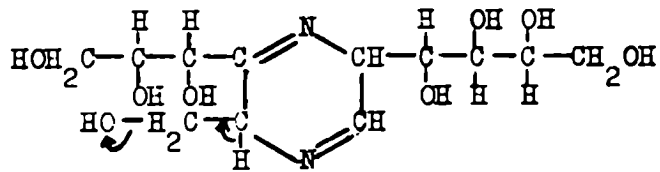
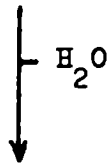
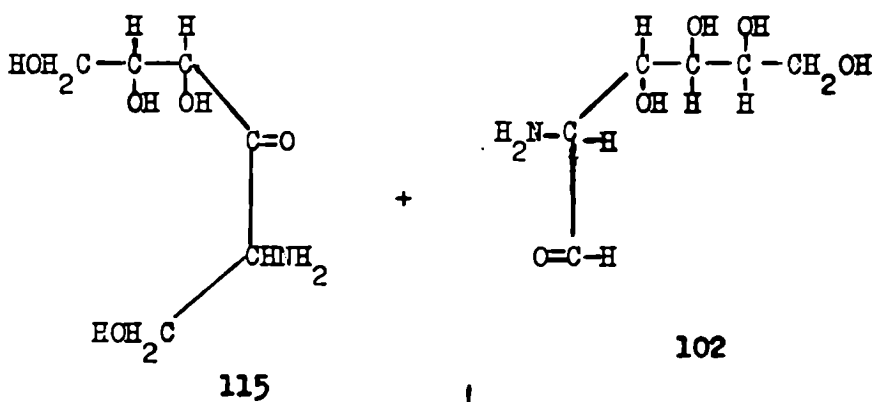
La 2-metil-5-(D-arabino-tetrahidroxibutil)-3-(D-eritre-trihidroxipropil)piracina (114) se formaría según un mecanismo que involucra la formación de una 2-desoxi-2-amino-3-oxetosa (115) (esquema XXI).

La 2,5-bis-(D-arabino-tetrahidroxibutil)piracina (103) se formaría por condensación de dos moléculas de 2-desoxi-2-amino-D-glucosa (102), dando la dihidropiracina sustituida (110) que en las condiciones de la reacción se oxidaría en presencia del oxígeno del aire (ver esquema XXII). En este trabajo Taha no aisló entre los productos de la reacción la desoxifruktosacina (109) obtenida por Kuhn y colaboradores¹¹¹ al calentar 2-desoxi-2-amino-D-glucosa con ácido acético durante media hora.

En 1963 Jeso⁸¹ estudió la reacción de la sacarosa con amoníaco acuoso en presencia o ausencia de catalisadores básicos inorgánicos, y obtuvo derivados metilados de piracinas y compuestos imidasólicos. El autor trató de explicar el mecanismo de la reacción, mediante la hipótesis de una hidrólisis de la sacarosa (116) a glucosa y fructosa, probablemente a sus formas 117 y 118. Una posterior reacción de estos productos con amoníaco formaría D-glucosilamina 119 y D-fructosilamina 120 respectivamente. La D-glucosilamina (119) por una transposición de Amadori daría la 1-desoxi-1-amino-D-fructosa 107, mientras que la D-fructosilamina (120) por transposición de Heyns daría la 2-



Esquema XX



114

Esquema XXI

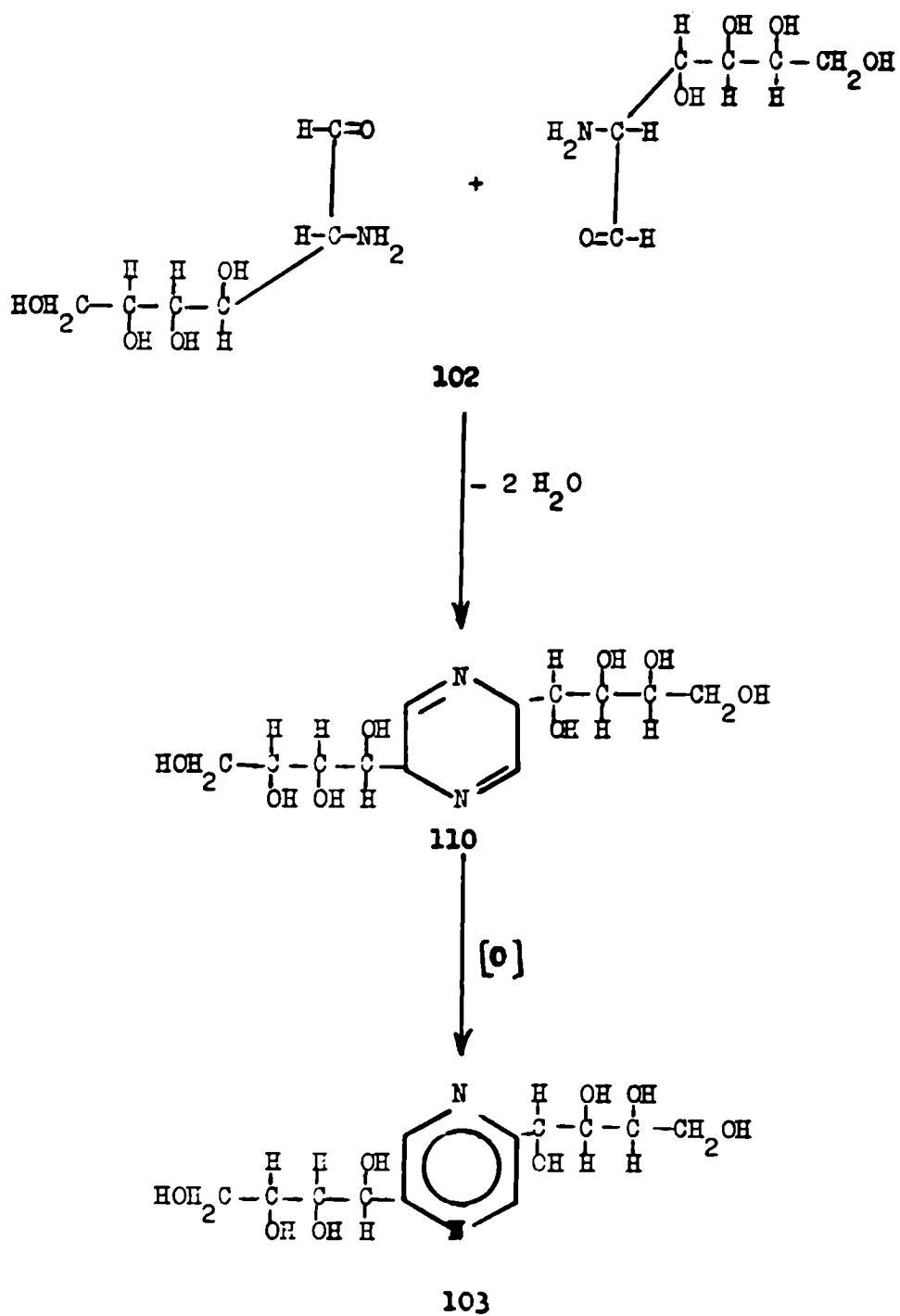


Схема XIII

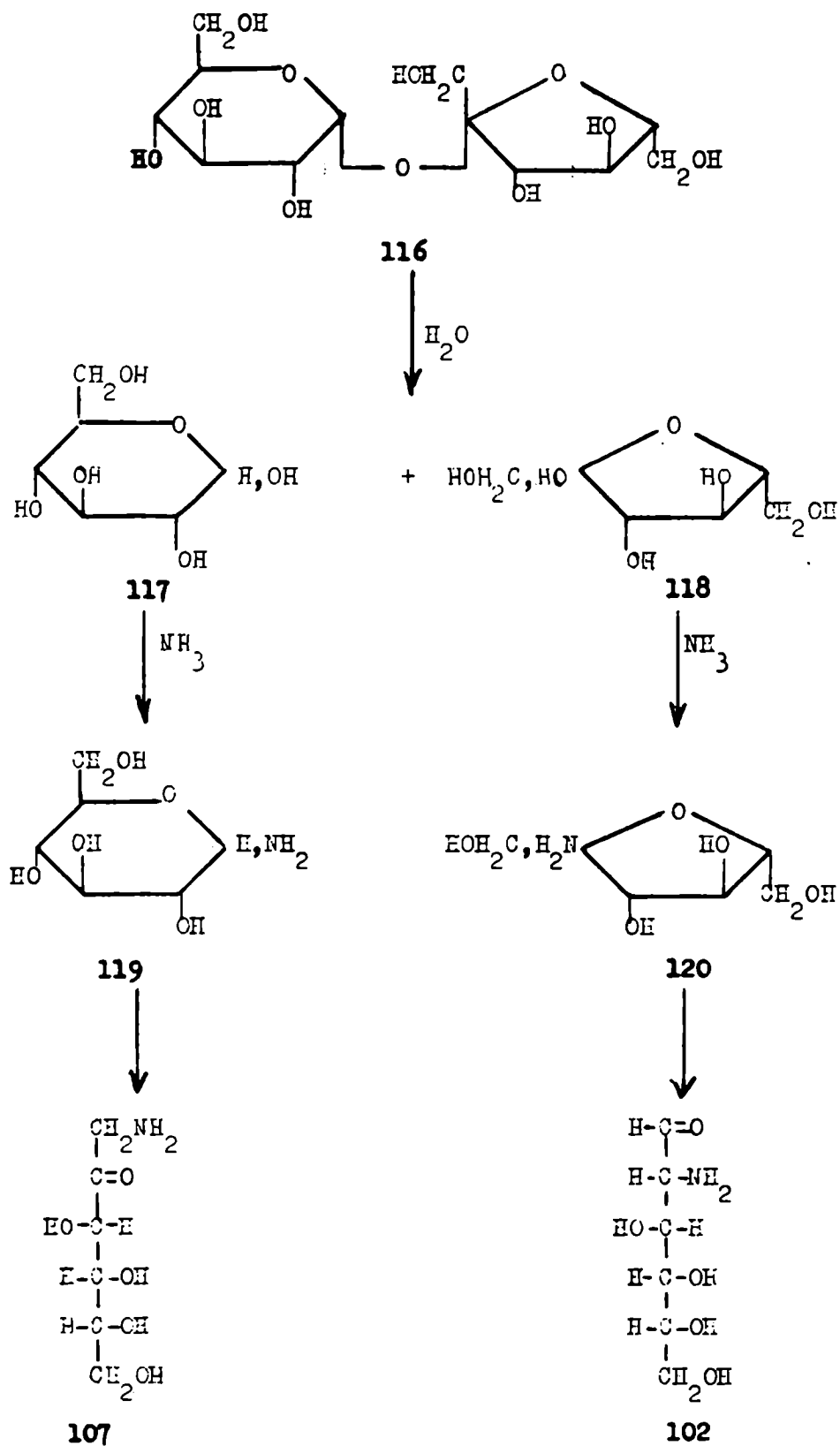
desoxi-2-amino-D-glucosa (102) (ver esquema XXIII).

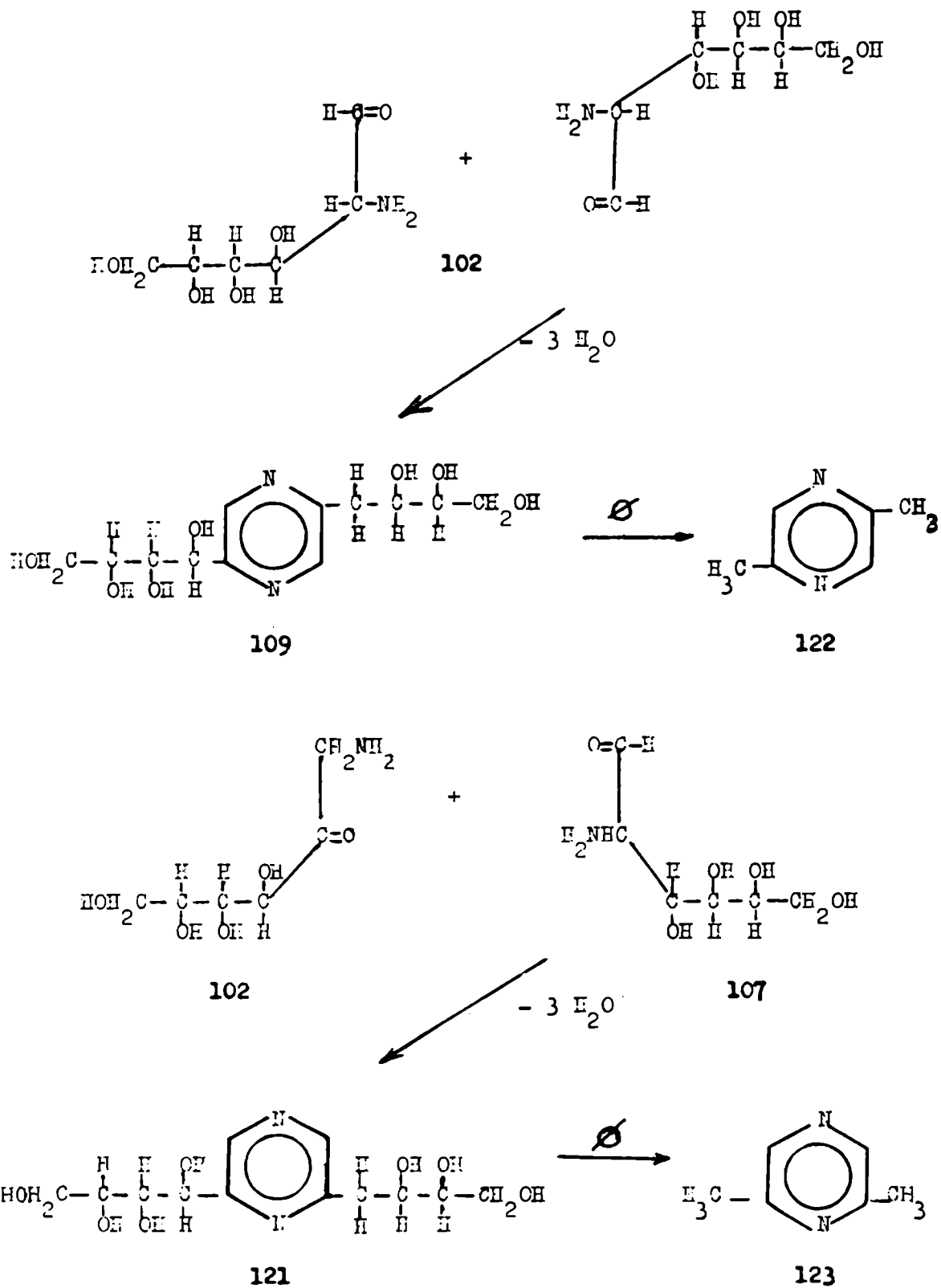
La condensación de dos moléculas de 2-desoxi-2-amino-D-glucosa (102) conduciría a la 2-(D-arabino-tetrahydroxibutil)-5-(D-eritro-2,3,4-trihydroxibutil)piracina (109), mientras que la condensación de una molécula de 2-desoxi-2-amino-D-glucosa (102) con una molécula de 1-desoxi-1-amino-D-fructosa (107) conduciría a la 2-(D-arabino-tetrahydroxibutil)-6-(D-eritro-2,3,4-trihydroxibutil)piracina (121) (ver esquema XXIV). Una subsiguiente destrucción de las cadenas laterales de ambas piracinas por acción térmica produciría la 2,5-dimetilpiracina (122) y la 2,6-dimetilpiracina (123) aisladas.

Jezó y Lušák⁸² realizaron la amonólisis a alta temperatura y empleando fosfato de amonio como catalizador, de la lactosa, la celobiosa y del producto obtenido de la oxidación del almidón con metaperiodato de sodio.

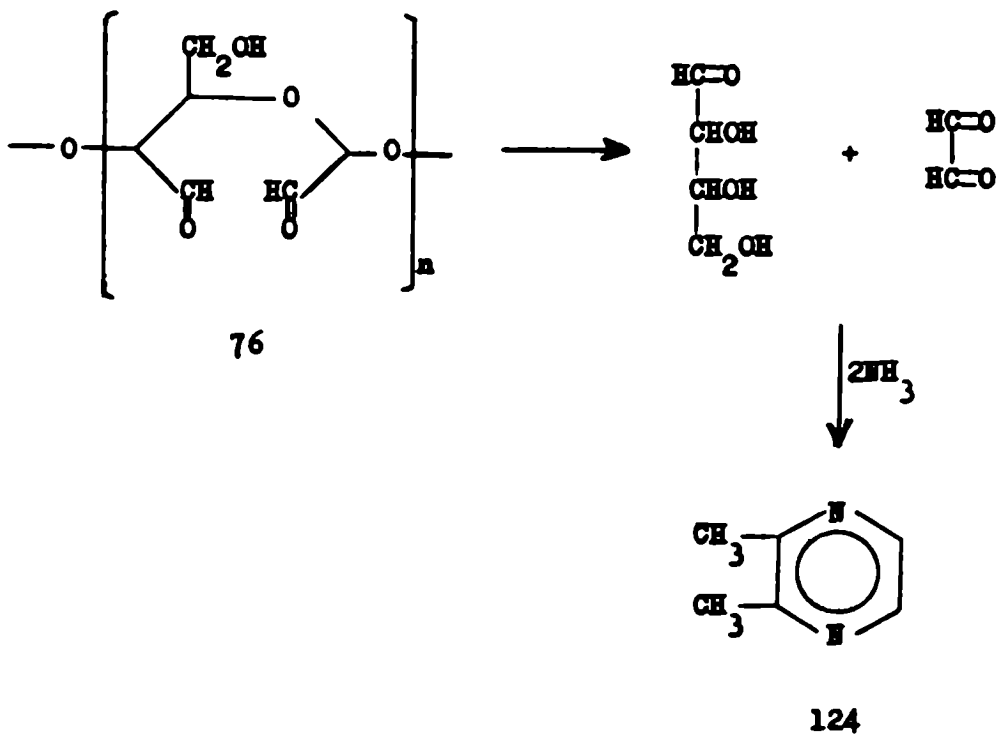
Para explicar la obtención de la 2,3-dimetilpiracina (124) en este último caso postularon una hidrólisis del dialdehído del almidón (76) obteniéndose fragmentos de cuatro y de dos carbonos. Una posterior reacción de estos productos con amoníaco conduciría a la formación de la 2,3-dimetilpiracina (124) (ver esquema XXV).

Estos mismos autores¹¹³ mediante reacción de la sacarosa con solución acuosa de metilamina en las mismas condiciones empleadas anteriormente, aislaron imidasclinas y dihidropiracinas N-metiladas. La formación de estas sustancias transcurriría de acuerdo con el mecanismo propuesto por Jezó para la reacción de la sacarosa con amoníaco acuoso⁸¹.



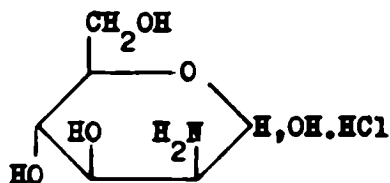


Esquema XXIV



Esquema XXV

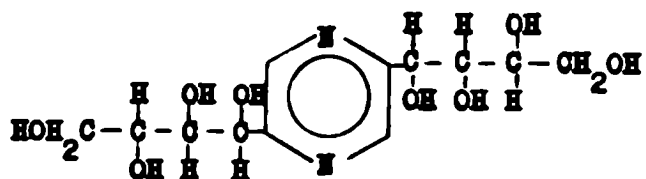
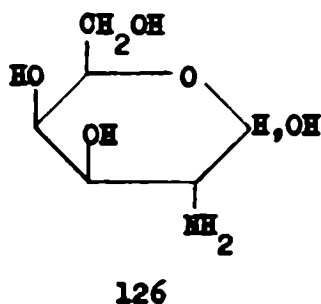
En 1966 Fujii, Kibachi y Kushida¹¹⁴ obtuvieron a partir de una solución metanólica de clorhidrate de 2-desoxi-2-amino-D-glucosa o clorhidrate de 2-desoxi-2-amino-D-mannosa (125) en presencia de metóxido de sodio la 2,5-bis-(D-arabino-tetrahidroxibutil)piracina (103). El rendimiento de este compuesto obtenido a partir de la 2-desoxi-2-amino-D-mannosa a 37° fue aproximadamente tres veces mayor que el obtenido a partir de la 2-desoxi-2-amino-D-glucosa.



125

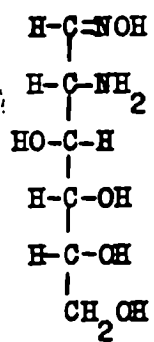
La formación de fructosacina (103) en condiciones suaves requería varios días y a veces meses. Estos autores encontraron que se formaba fructosacina (103) después de cuatro horas si se hacía burbujear aire a través de la solución metanólica de clorhidrato de 2-desoxi-2-amino-D-glucosa en presencia de metóxido de sodio a 70°. En la solución metanólica alcalina de la 2-desoxi-2-amino-D-glucosa (102) junto con la fructosacina (103) se encontró 2-desoxi-2-amino-D-manosa. La estructura de la fructosacina obtenida (103) en todos los casos fue determinada por el espectro I.R., las constantes físicas y la formación del ácido 2,5-piracindicarboxílico (104). Su formación en estas condiciones podría explicarse por la deshidrogenación de la dihidropiracina (110) por el oxígeno del aire.

Asimismo Fujii y Kashida¹¹⁵ por calentamiento de la 2-desoxi-2-amino-D-galactosa (126) en solución metanólica, en presencia de metóxido de sodio obtuvieron la 2,5-bis-(D-liso-tetrahidroxibutil)piracina (127) llamada tagatosacina, isómera de la fructosacina (103).

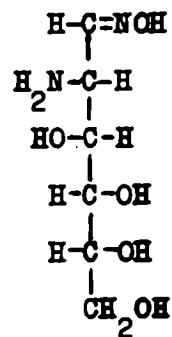


Fujii y Kobatake¹¹⁶ por condensación de la oxima de la 2-desoxi-2-amino-D-glucosa (128) o de la oxima de la 2-desoxi-2-amino-D-manosa (129) con glioxal en solución acuosa y a temperatura ambiente obtuvieron la 2-(D-arabino-tetrahidroxibutil)piracina-4-N-óxido (130) (ver esquema XXVI).

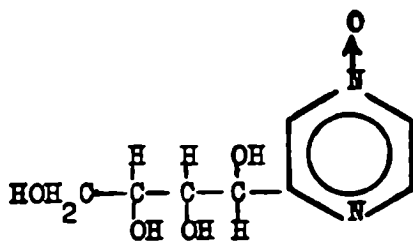
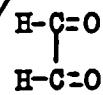
En la reacción¹¹⁷ de la penta-O-nicotinil-D-glucosa (131) con amoníaco acuoso al 25% se aisló e identificó la 2-(D-arabino-tetrahidroxibutil)-6-(D-eritro-2,3,4-trihidroxibutil)piracina (121) que fuera postulada por Jeze⁸¹ como intermediaria en la formación de la 2,6-dimetilpiracina. El mismo compuesto (121) fue aislado en la amonólisis de la penta-O-nicotinil-D-manosa (132) con amoníaco acuoso al 25%.



128

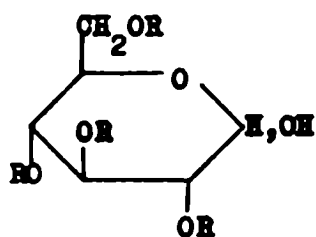


129

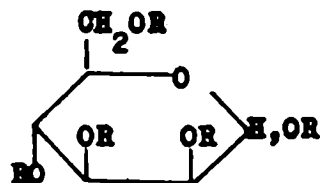


130

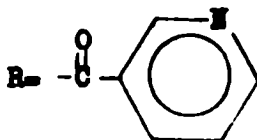
Esquema XXVI



131



132



No se obtuvo, en cambio, ningún derivado piracínico de la amonólisis de la penta-O-nicotinil-D-galactosa y tetra-O-nicotinil-L-arabinosa.

La estructura de la 2-(D-arabino-tetrahidroxibutil),6-(D-eritro-2,3,4-trihidroxibutil)piracina (121) aislada fue demostrada estableciendo la ubicación de los sustituyentes en el anillo piracínico por oxidación con agua oxigenada, con lo que se obtuvo el ácido 2,6-piracina dicarboxílico. El número y la ubicación de los grupos hidroxilo en las cadenas laterales fue determinado por oxidación con metaperiodato de sodio y por el espectro de R.M.N. que fue análogo al de la 2-(D-arabino-tetrahidroxibutil)-5-(D-eritro-2,3,4-trihidroxibutil)piracina (109) cuya estructura ya había sido demostrada por Kuhn y colabo-

radores. El espectro de R.M.N. del derivado heptaacetilado de 121 confirmó la estructura propuesta.

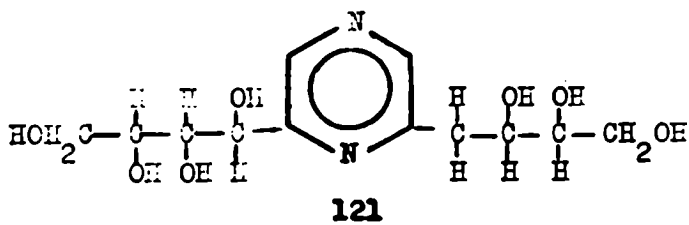
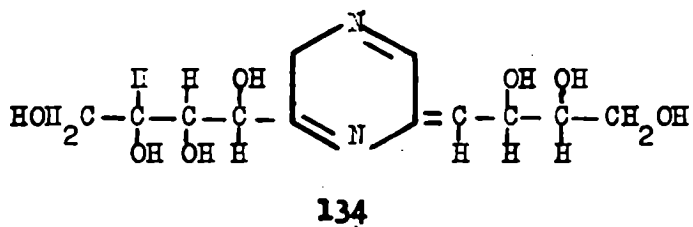
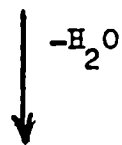
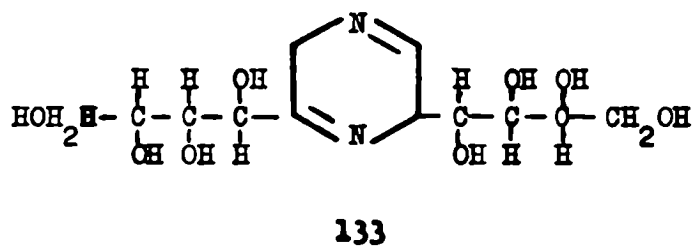
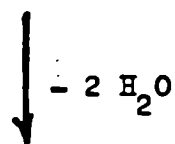
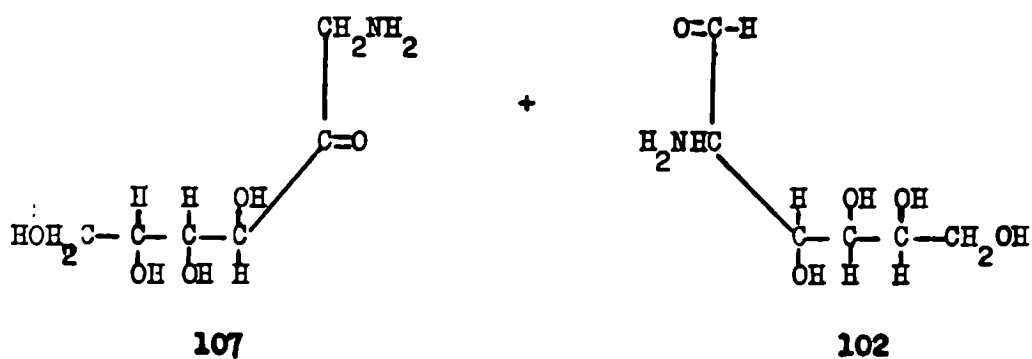
La formación de la 2-(D-arabino-tetrahidroxibutil)-6-(D-eritro-tri hidroxibutil)piracina (121), a partir de la penta-O-nicotinil-D-glucosa (131), se explicaría suponiendo que la glucosa (117) liberada por la amonólisis de todos los restos nicotinilo (ver esquema XXIII) estaría, en el medio amoniacal, en equilibrio con D-fructosa (118) a través de una transformación de Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein^{88,118}.

Al reaccionar con amoniaco, la glucosa (117) y la fructosa (118) formarían respectivamente la D-glucosilamina (119) y D-fructosilamina (120). La glucosilamina por una transposición de Amadori daría la 1-desoxi-1-amino-D-fructosa (107), mientras que la fructosilamina por una transposición de Heyns pasaría a glucosamina (102). Estas teorías son análogas a las propuestas por Jess⁸¹ para explicar las transformaciones sufridas por la sacarosa.

La condensación de la D-glucosamina (102) con la 1-desoxi-1-amino-D-fructosa (107) daría lugar a la formación de la 2-(D-arabino-tetrahidroxibutil)-6-(D-eritro-2,3,4-trihidroxibutil)piracina (121) (ver esquema XXVII).

Idéntico razonamiento se hizo en el caso de la amonólisis de la penta-O-nicotinil-D-manosa (132), ya que si la D-manosa libre sufre el mismo tipo de transformaciones que las propuestas para la D-glucosa podría conducir a la formación de D-glucosamina (102) y 1-desoxi-1-amino-D-fructosa (107), lo cual explicaría la obtención del mismo derivado piracínico 121.

En el primer paso de la condensación, la D-glucosamina (102) con la 1-desoxi-1-amino-D-fructosa (107) formaría la dihidropiracina 133 la cual se deshidrataría eliminando una molécula de agua por un mecanismo análogo a la crotonización del acetaldo, perdiendo



Esquema XXVII

un protón del carbono terciario del heterociclo y un hidroxilo de su carbono vecino de la cadena lateral; finalmente el intermediario (134) se estabilizaría por aromatización del heterociclo para dar origen a la 2-(D-arabino-tetrahidroxibutil)-6-(D-eritro-2,3,4-trihidroxibutil) piracina (121).

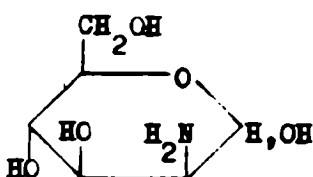
CAPITULO III

III - ACCION DE AMINO COMPUESTOS SOBRE CETOSAS.

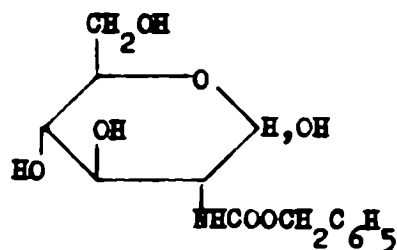
Entre los primeros trabajos realizados acerca de la acción del amoníaco sobre cetosas se destacan los de Lobry de Bruyn^{107,108} en los cuales por reacción de fructosa con amoníaco metálico obtuvo un único producto cuya estructura correspondería a la de la fructosamina (103).

Heyns y Meinecke¹¹⁹ investigaron la interacción de D-fructosa con amoníaco líquido, y determinaron la presencia de fructosa no transformada, de glucosa y de glucosamina, esta última con rendimientos variables entre 10% y 35% según las condiciones de la reacción. Se logró un aumento en el rendimiento empleando temperaturas de hasta 100°, y también por agregado de amida sódica, de hidróxido de sodio o prolongando el tiempo de reacción. En presencia de cloruro de amonio (relación fructosa-cloruro de amonio 1:1) el rendimiento fue del 33% a temperatura ambiente.

Para establecer que se trataba de D-glucosamina (102) y no de D-manosamina (135) se preparó el N-carbobenzoxiderivado (136). La reducción de este compuesto permitió recuperar la D-glucosamina, lo que demuestra que no se formó manosamina en cantidades importantes. Además esta reacción demostró que el compuesto aislado no era la 1-desoxi-1-amino-D-fructosa (107).

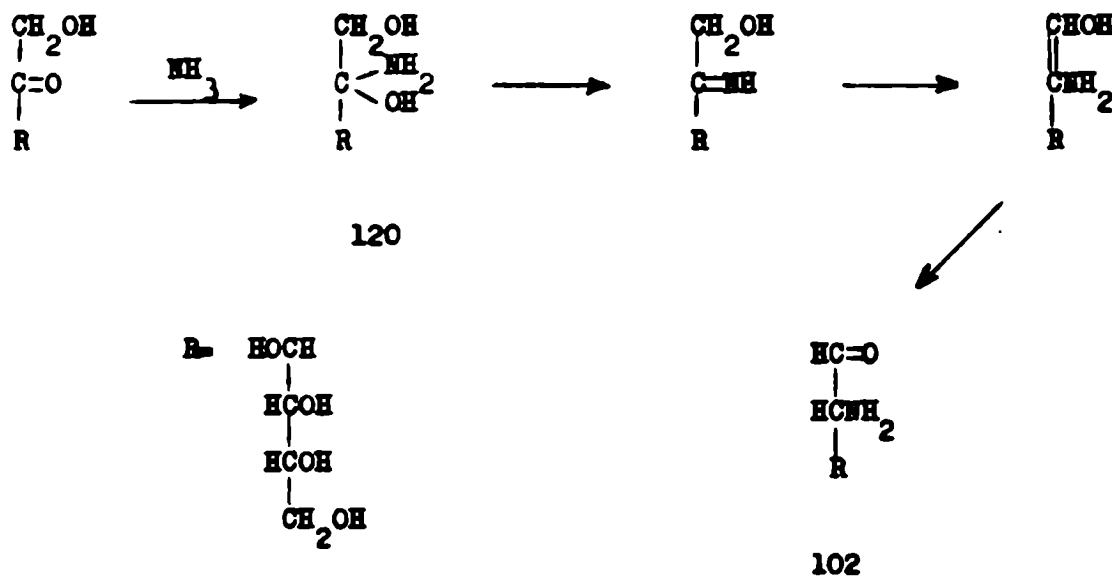


135



136

Los autores¹¹⁹ explicaron el mecanismo de formación de glucosamina a partir de fructosa y amoníaco a través de las siguientes formas no cíclicas (ver esquema XVIII).



Esquema XVIII

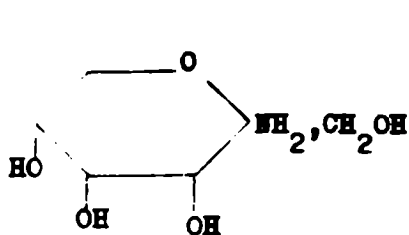
En este trabajo no se detectó la fructosilamina intermedia (120) ya que se produjo un reordenamiento espontáneo para dar la glucosamina (102) con un rendimiento bajo. Cuando la reacción se llevó a cabo con amoníaco metabólico¹²⁰, la mayor parte de la D-fructosilamina (120) se precipitó como oxalato, el cual se redisolvió con exceso de ácido oxálico, facilitándose así el posterior reordenamiento. Otra interpretación de este mecanismo se da en la pág. 93.

Se determinó que los ácidos orgánicos ejercen una acción catalítica sobre el reordenamiento de la D-fructosilamina. Debido a que se

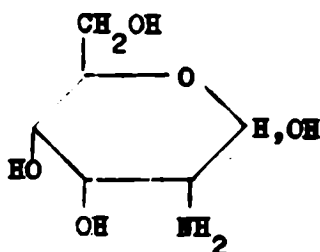
puedan producir dos reacciones competitivas: la ruptura hidrolítica de la cetosilamina y la transposición a la 2-desoxi-2-aminoaldosa, la catálisis depende de la fuerza del ácido ya que al aumentar la fuerza del mismo tiene lugar la hidrólisis y por consiguiente la cantidad de productos de reordenamiento disminuye.

Se comprobó que al tratar D-glucosamina con exceso de amoniaco líquido y trazar de agua, se pudieron detectar por cromatografía cuatro manchas de las cuales la más importante fue la de la fructosa. La transformación en estas condiciones transcurriría de modo diferente a la ruptura en solución acuosa de la glucosamina en la cual no se detectó fructosa.

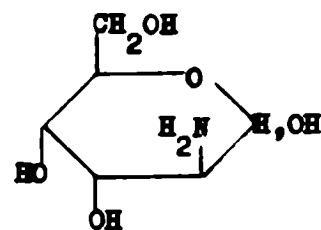
Hayas y colaboradores¹²⁰ encontraron que la D-psicosilamina (137) presentaba un comportamiento semejante al de la D-fructosilamina, es decir que en parte se reordena espontáneamente, pero en presencia de catalizadores como el ácido succínico se incrementa el reordenamiento obteniéndose D-alosamina (138) y D-altrosamina (139) en la relación 2:1.



137



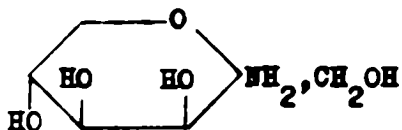
138



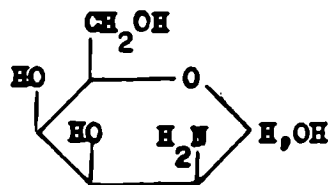
139

La D-tagatosa reaccionó con amoniaco metálico, en presencia de cantidades catalíticas de cloruro de amonio, más rápidamente que la D-fructosa. La D-tagatosilamina obtenida (140) se reordenó espontánea

mente a D-galactosamina (126) y a D-talcosamina (141). La relación de rendimientos entre ambos aminocácaros fue de aproximadamente 2:1 respectivamente.



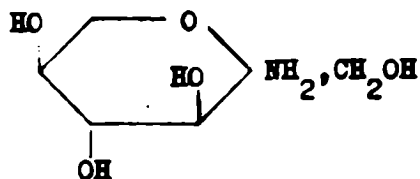
140



141

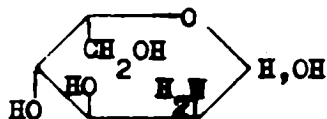
El agregado de un ácido orgánico como catalizador, no aumentó el rendimiento total de los productos de transposición, solamente produjo un aumento en la cantidad de D-talcosamina (141), de manera que se obtuvieron ambos aminocácaros en partes iguales.

La reacción de la L-sorbose con amoniaco líquido presentó un comportamiento diferente al de la D-fructosa¹²¹. Empleando cloruro de amonio como catalizador y a baja temperatura se recuperó casi la totalidad de la sorbose empleada, mientras que a 100° aproximadamente, se produjeron degradaciones del azúcar. Con amoniaco metálico a 60° se obtuvo la L-sorbosilamina cristalina (142) con buen rendimiento (30%)¹²⁰. Cuando la reacción se interrumpió inmediatamente después de la disolución de la sorbose se obtuvo además la di-L-sorbosilamina.

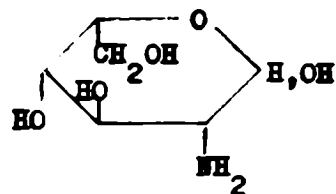


142

La L-sorbozilamina mostró gran estabilidad y poca tendencia al reordenamiento. Por calentamiento en metanol, con ácido oxálico como catalizador y bajo condiciones relativamente drásticas se produjo el reordenamiento de este aminoazúcar dando L-gulosamina (143) y L-idosamina (144) en cantidades iguales.



143



144

Con aminas alifáticas y aromáticas las cetosas se comportan de un modo diferente a las aldosas. Las aldosas reaccionan con aminas aromáticas dando L-desoxi-L-amilamino cetosas¹²² fácilmente en presencia de cantidades catalíticas de ácido.

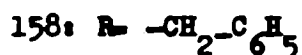
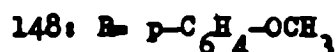
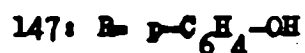
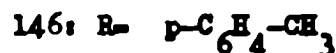
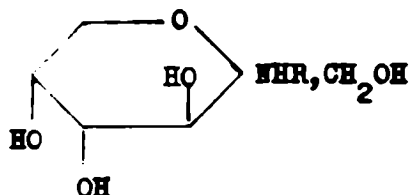
Las aldosilaminas con sustituyentes alifáticos se reordenan en condiciones especiales: por influencia de grupos metileno activos¹²³

ácido oxálico¹²⁴ o grupos carboxilo unidos intramolecularmente¹²⁵.

La fructosa se comporta de manera algo diferente ya que las fructosilaminas de aminas alifáticas se reordenan fácilmente, en general espontáneamente, para dar 2-desoxi-2-alkilamino aldosas. Las fructosilaminas N-aromáticas no han evidenciado reordenamiento.

La preparación de productos de condensación de fructosa con aminas presenta mayores dificultades y menores rendimientos que las correspondientes reacciones con glucosa.

Sorokin¹²⁶ hizo reaccionar anilina con D-fructosa en etanol hirviente y obtuvo N-fenil-fructosilamina (145) cristalina con bajo rendimiento.



Morrell y Bellars¹²⁷ por adición de guanidina a fructosa en solución alcohólica obtuvieron un precipitado blanco, microcristalino que los autores llamaron levulosa-guanidina.

La reacción de la p-fenetidina con D-fructosa o L-ascorosa en alcohol y en presencia de cloruro de amonio como catalizador dió las N-p-etoxifenil-cetosilaminas correspondientes con 15% de rendimiento¹²⁸.

Cuando Barry y Honeyman¹²⁹ hicieron reaccionar D-fructosa con anilina recuperaron la fructosa inalterada. La adición de cloruro de amonio o de clorhidrato de anilina catalizó la reacción y se obtuvo N-fenil-D-fructosilamina cristalina (145) con bajo rendimiento junto con el azúcar original. El rendimiento de 145 aumentó cuando se eliminó el agua producida en la reacción o utilizando etanol anhidro. Estos hechos sugerirían la posibilidad de que se trate de una reacción de equilibrio.

Cuando se hizo reaccionar p-toluidina con D-fructosa en etanol anhidro hirviendo y en presencia del clorhidrato de la amina se obtuvo la N-p-tolil-D-fructosilamina cristalina (146), compuesto que ya había sido sintetizado por Inoue y Onodera¹³⁰.

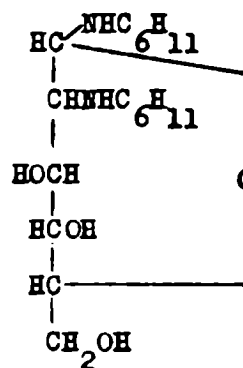
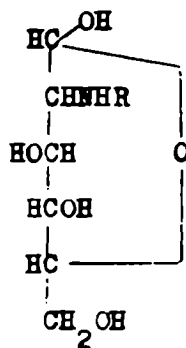
No se obtuvieron anómeros de estas sustancias, aunque presentaron mutarrotación en etanol y en piridina. Los compuestos 145 y 146 fueron acetilados y benzoilados obteniéndose tetraacetatos y tetra-benzoatos cristalinos. La hidrólisis del resto amino dió los respectivos ésteres con los grupos aceto o benzoilo en las posiciones 1, 3, 4 y 5, que fueron idénticos a los preparados por Paosu y Rich⁵ y Brigl y Schinle²⁹, lo que demostró que las D-fructosilaminas N-sustituidas poseían estructura piranósica.

De la interacción de D-fructosa con p-aminofenol o con p-anisidina en presencia de cloruro de zinc se obtuvo N-p-hidroxifenil-D-fructosilamina (147) y N-p-metoxifenil-D-fructosilamina (148) respectivamente¹³¹.

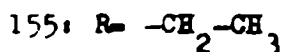
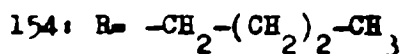
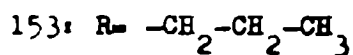
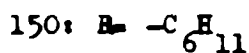
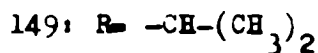
Según Erickson¹³² varios moles de amina podrían reaccionar con un mol de hexosa, probablemente a través de una serie de transposiciones de Amadori, seguidas por la reacción del grupo carbonilo formado con otro mol de amina. Así una solución de fructosa y octadecilamina

en isopropanol acuoso dió un sólido blanco cuyo análisis elemental demostró que este compuesto poseía dos moles de amina por mol de fructosa. Con sorbosa encontré que por cada mol de azúcar se introdujeron cinco moles de octadecilamina. El autor dió el punto de fusión y el análisis de los compuestos obtenidos, pero en ausencia de información más completa, la constitución de estas sustancias es incierta.

Carson¹³³ hizo reaccionar la D-fructosa con exceso de isopropilamina anhidra a temperatura ambiente y obtuvo la 2-desoxi-2-amino-N-isopropil-aldehexosa (149) con un 10-15% de rendimiento. La reacción de la fructosa con exceso de ciclohexilamina anhidra a 0° dió la 2-desoxi-2-amino-N-ciclohexil-aldehexosa (150) con un rendimiento del 12%. Se obtuvo además en esta reacción la 2-desoxi-2-amino-N,N'-diciclohexil-glucozil o manosilamina (151), con aproximadamente el mismo rendimiento.



151



El tratamiento del compuesto 150 con ciclohexilamina anhidra da el diamino compuesto 151, cuya hidrólisis con ácido clorhídrico regenera a 150.

La moderadamente alta dextrorrotación de 149 y 150 acompañada de mutarrotación hacia valores negativos sugería que la configuración del carbono glicosídico era α .

Carson¹³⁴ encontró que la fructosa y la etilamina anhidra daban la N-etil-fructosilamina (152) con un 70-80% de rendimiento. Con n-propilamina o n-butilamina, sin embargo los correspondientes fructosil derivados no pudieron ser aislados. En cambio se obtuvieron con bajo rendimiento los correspondientes compuestos reordenados: la 2-desoxi-2-amino-N-propil-aldohexosa (153) y la 2-desoxi-2-amino-N-butil-aldohexosa (154).

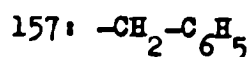
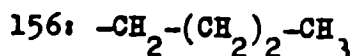
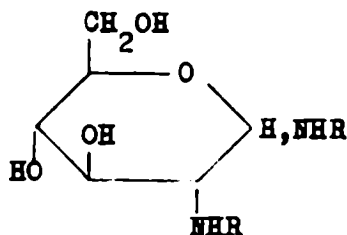
La N-etilfructosilamina en ácido clorhídrico diluido acuoso se hidrolizó rápidamente a temperatura ambiente dando etilamina y fructosa. El compuesto mostró ser muy reactivo en estado sólido y en solución. En metanol a temperatura ambiente dió la 2-desoxi-2-amino-N-etil-aldohexosa (155), con bajo rendimiento, acompañada por la producción de material resinoso negro. Este reordenamiento fue catalizado por trazas de ácido acético en el solvente.

Las bases libres de las 2-desoxi-2-amino-N-alquil-aldohexosas fueron dextrógiras y la mutarrotación hacia valores negativos sugirió una configuración α . Esto fue sustentado por los datos de los espectros IR. Se comprobó que estos compuestos presentaban un cambio sumamente pequeño en la rotación específica al variar la temperatura lo cual estaría de acuerdo con una estructura piranósica de las moléculas.

Carson aplicó la regla sal-ácido de Levene¹³⁵ a la 2-desoxi-2-amino-N-butil-aldohexosa. De acuerdo con esta regla, si en la serie

D, la sal de sodio de un ácido aldónico es más dextrógira que el ácido libre, el hidroxilo del C-2 se encuentra a la derecha en la proyección de Fischer. Después de oxidar la sustancia con óxido de mercurio y determinar las correspondientes rotaciones ópticas, se dedujo que, si la regla podía extenderse a alquilamino derivados, el compuesto 154 tendría la configuración de D-glucosa en el C-2.

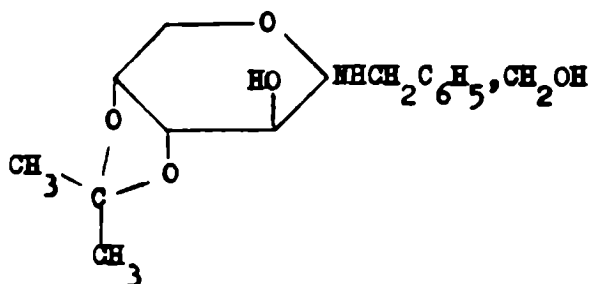
Heyns y colaboradores¹²¹ por interacción a temperatura ambiente de la D-fructosa con butilamina o bencilamina en presencia del clorhidrato de la amina correspondiente aislaron la 2-desoxi-2-amino-N,N'-dibutil-D-glucosilamina (156) y la 2-desoxi-2-amino-N,N'-dibencil-D-glucosilamina (157).



Una hidrólisis en medio clorhídrico dió la correspondiente glucosamina N-sustituida junto con el clorhidrato de la amina separada. El compuesto 157 se hidrogenó con paladio-carbón en ácido clorhídrico 1N a glucosamina, la cual se aisló como N-carbobenzoxi-D-glucosamina (136).

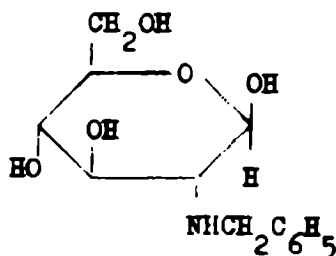
En estas investigaciones realizadas sobre la reacción de D-fructosa con bencilamina, no fue aislado el intermediario N-bencil-fructosilamina, probablemente porque el clorhidrato de la amina catalizó el reordenamiento. Cuando Carson¹³⁶ realizó la reacción en ausencia de clorhidrato de bencilamina a baja temperatura obtuvo la N-bencil-

fructosilamina cristalina (158) con 40-50% de rendimiento. De la solución acotónica de donde precipitó 158 aisló también una isopropilidán N-bencil-fructosilamina que probablemente poseía la estructura 159.



159

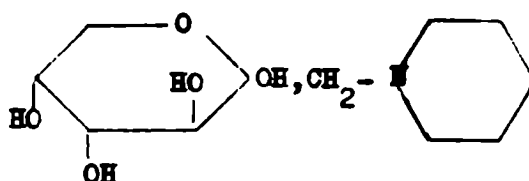
En base a observaciones de la rotación óptica no se pudieron sacar conclusiones sobre la configuración de 158, debido a que esta sustancia se descompuso en los solventes usuales. En solución ácida diluida se hidrolizó rápidamente a fructosa y bencilamina y en solución metanólica se reordenó a la 2-desoxi-2-amino-N-bencil-D-glucosa (160) aislable con un 5-10% de rendimiento. La presencia de ácido acético en la solución metanólica aumentó el rendimiento del producto reordenado al 50%.



160

La 2-desoxi-2-amino-N-bencil-D-glucosa (160) se obtuvo como un β -anómero, ya que presentaba mutarrotación en sentido positivo. La configuración de este compuesto fue establecida por hidrogenólisis catalítica, obteniéndose la 2-desoxi-2-amino-D-glucosa. Además aplicando la regla de Levene¹³⁵ se obtuvo otra prueba en favor de la configuración de D-glucosa.

De las experiencias realizadas se puede afirmar que en general, las aminas alifáticas primarias reaccionan con D-fructosa a bajas temperaturas dando, por transposición de los N-fructósidos, derivados N-sustituídos de la D-glucosamina. Con aminas alifáticas secundarias, en cambio, utilizando condiciones análogas no se produjo reacción. A más altas temperaturas (40°-60°)¹³⁷ la interacción de D-fructosa con piperidina dió un jarabe fácilmente hidrolizable por ácidos. En presencia de ácido acético como catalizador se produjo un reordenamiento dando l-desoxi-l-piperidino-D-fructosa (161) como producto principal y otra sustancia probablemente derivada de la glucosamina que no se pudo obtener en forma pura debido a su gran inestabilidad.

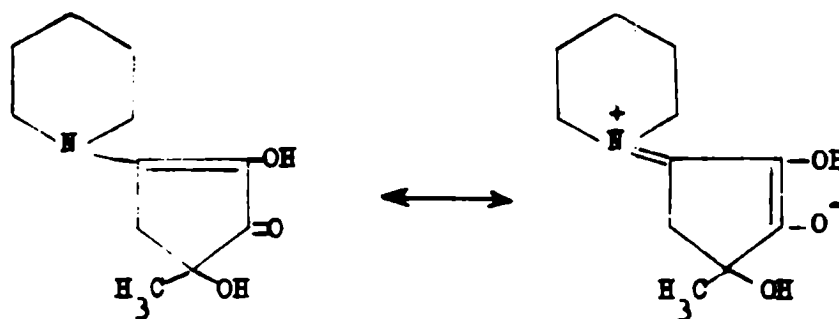


161

La mezcla de reacción contenía junto con fructosa una gran cantidad de glucosa, producida por una transposición de Lobry de Bruyn-van Ekenstein, bajo la influencia de la piperidina fuertemente básica. La glucosa presente sería la que a través de la N-piperidil-glu_

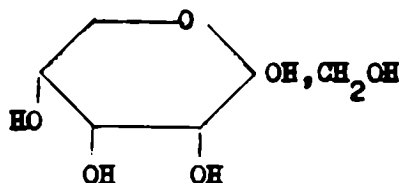
osilamina conduciría al compuesto 161, por una transposición de Amadori. La formación de derivados de glucosamina, presentes en menor cantidad, se produciría por recondensamiento de la cetosilamina.

En la reacción se obtuvieron también como productos laterales dos reductonas, de una de las cuales había sido demostrada su estructura¹³⁸ de piperidino-hexosa-reductona o N-2,3,4-trihidroxi-4-metil-ciclohexan-5(1)-iliden piperidino betaina (162) (ver pág.114),



162

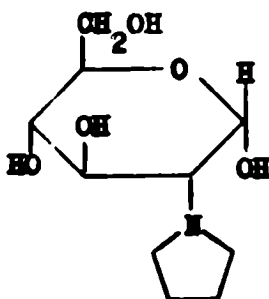
Se estudió también la reacción de la D-fructosa, bajo diferentes condiciones con morfolina, etil-n-butilamina, di-n-butilamina, diciohexilamina y dibencilamina y no se detectaron en ningún caso productos de condensación, pero sí isomerización a D-psicosa (163) especialmente en el caso de la diciohexilamina y la morfolina donde el rendimiento fue del 20-25%.



163

Con aminas terciarias la isomerización se produjo en muy pequeña escala. La piridina no reaccionó ni con fructosa ni con sorbosa.

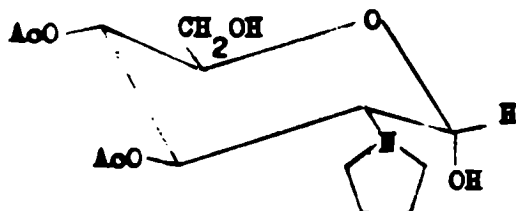
Cuando la D-fructosa se calentó durante 6 hs con una solución etérea de pirrolidina en presencia de cantidades catalíticas de ácido acético se obtuvo la 2-desoxi-2-pirrolidino- α -D-glucopiranososa (164) con 15,5% de rendimiento¹³⁹.



164

El producto intermediario de la reacción sería el N-fructósido correspondiente.

La estructura del compuesto 164 fue estudiada mediante el espectro de masa del tetraacetato y los espectros de R.M.N. del tetraacetato y del tetrabenzoato. Del espectro de masa se dedujo que el compuesto 164 poseía estructura piramésica y que el grupo pirrolidino se encontraba en el C-2. De los estudios de los espectros de R.M.N. se estableció que la configuración era de una α -D-glucosamina sustituida. Además el valor de las constantes de acoplamiento demostró una conformación silla C1 (165).



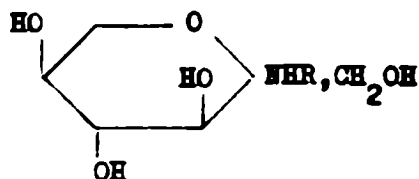
165

La interacción de L-sorbosea con aminas alifáticas transcurre de una manera clara. Hayns y colaboradores¹²¹ obtuvieron por acción de aminas sobre L-sorbosea los siguientes compuestos cristalinos con buen rendimiento: N-bencil-L-sorbo-silamina (166 ; 33,7%), N-butil-L-sorbo-silamina (167 ; 27,7%) ; N-hexil-L-sorbo-silamina (168 ; 42%) ; N-ciclohexil-L-sorbo-silamina (169 ; 31%) ; N-isocamil-L-sorbo-silamina (170 ; 26%) y N-fenil-etil-L-sorbo-silamina (171 ; 39%). En la mescla de reacción se obtuvieron cantidades considerables de sorbosea sin reaccionar, a pesar de haber utilizado un exceso de amina.

Las L-sorbo-silaminas obtenidas, en solución acuosa sufrieron hidrólisis, como se verificó por la variación del poder rotatorio y del pH de las soluciones. Esto está de acuerdo con Barolay y colaboradores¹⁴⁰ quienes determinaron que la aparente mutarrotación de gli-cosilaminas N-sustituídas en solución se podría atribuir a la hidrólisis.

A partir del compuesto 166 se obtuvieron la 1-O-tritil-N-bencil-L-sorbo-silamina y la 1,3,4,5-tetra-O-acetil-N-bencil-L-sorbo-silamina, de la cual se dedujo que el compuesto original poseía estructura pira-

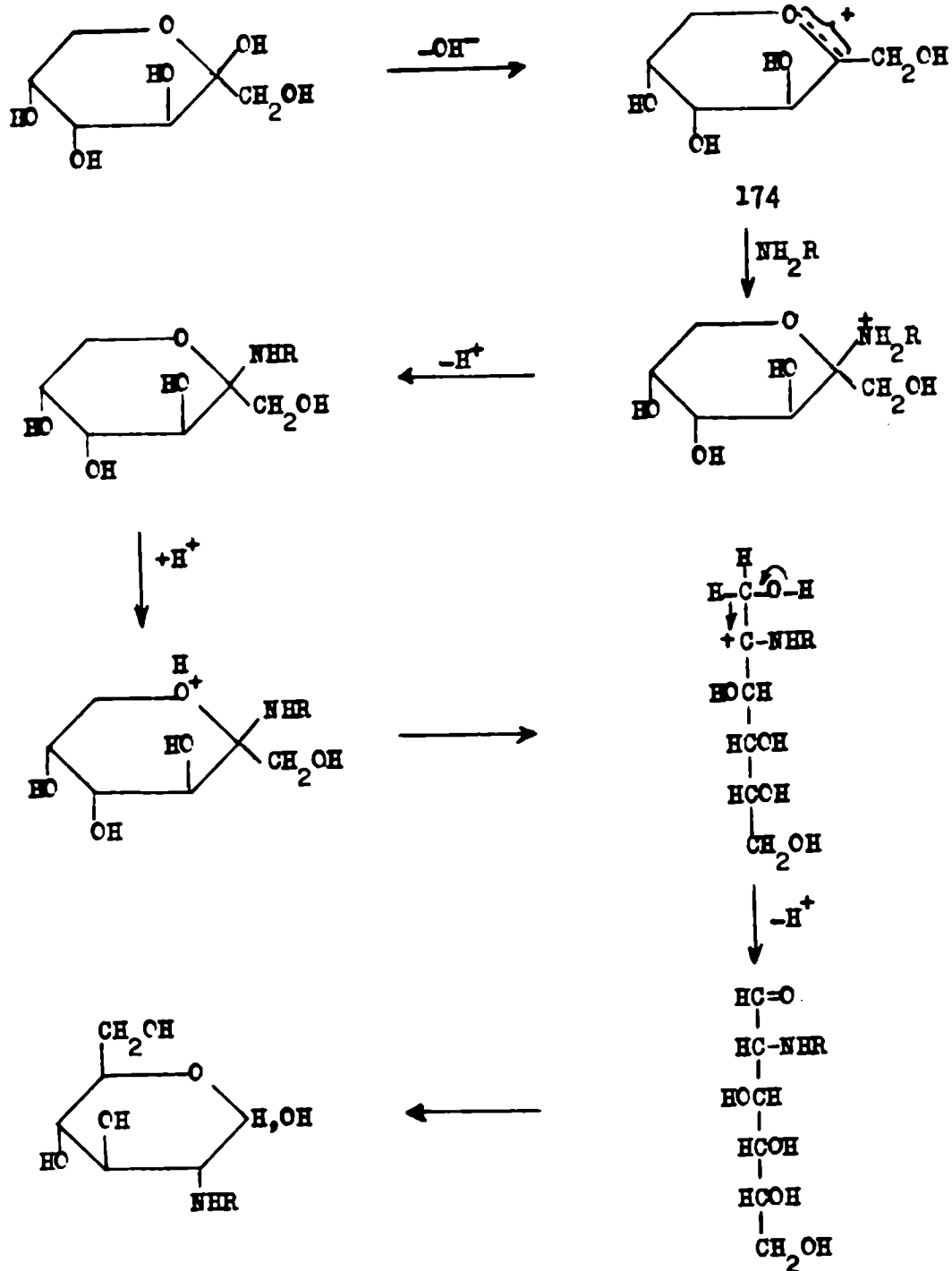
nésica.



- 166: R= $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$
 167: R= $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_3$
 168: R= $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_4-\text{CH}_3$
 169: R= $-\text{C}_6\text{H}_{11}$
 170: R= $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{CH}_3$
 171: R= $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$
 172: R= *p*- $\text{C}_6\text{H}_4-\text{OCH}_2\text{CH}_3$
 173: R= *p*- $\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_3$

La *N*-butil-*L*-sorbosilamina (167) y la *N*-bencil-*L*-sorbosilamina (166) se reordenaron bajo la acción de ácido oxálico a las correspondientes 2-desoxi-2-amino azúcares *N*-sustituídas. En esas condiciones no evidenciaron transposición las *N*-aril-sorbosilaminas como la *N*-*p*-etoxifenil-*L*-sorbosilamina¹²⁸ (172) y la *N*-*p*-tolil-*L*-sorbosilamina (173) obtenida por primera vez por Hayns y colaboradores¹²⁰.

En lo que concierne al mecanismo de transposición de cetosilaminas, se consideró¹²⁰ que el primer paso de la reacción sería la formación del *N*-glicósido, produciéndose una sustitución en el carbono reductor por un mecanismo similar al propuesto por Lemieux¹⁴¹ y Hüber¹⁴². Como producto intermedio (ver esquema XXIX) se tendría un ión oxónico o carbonio (174), el cual en base a una disposición planar de la unión C=O, la que tendría un cierto carácter de doble ligadura



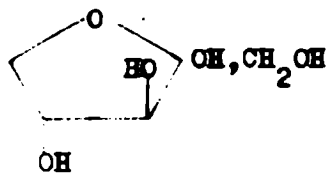
Esquema XXIX

adoptaría una conformación de semisilla.

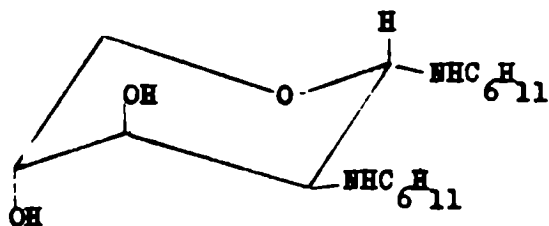
La apertura del anillo transcurre en general mediante catálisis protónica sobre una estructura tipo oxanio. Esta reacción depende de la estructura del azúcar y del tipo de amina unida. La reacción de apertura del anillo es competitiva con la de ruptura del N-glicósido, que es igualmente una reacción catalizada por protones. El correspondiente reordenamiento después de la apertura del anillo fue formulado teniendo en cuenta la transferencia de un ión hidruro (ver esquema XXIX). La gran labilidad del anillo de la fructosa comparado con el de la sorbosa explicaría la mayor tendencia al reordenamiento de los derivados de la D-fructosa con respecto a los de la L-sorbosa.

Por otra parte no debe descartarse la posibilidad de extender a las transposiciones de cetosas los hechos observados con aldosas por Micheal y Dijong¹⁴³ en los que la formación intermedia de un bis-alquilamino derivado en el carbono reductor juega un papel importante.

Cuando se hizo reaccionar D-xilulosa (175) muy pura y recién preparada con ciclohexilamina se pudo aislar un dicitclohexilamino derivado¹⁴⁴ cuya estructura fue estudiada mediante espectros de R.M.N. Se comprobó que el compuesto aislado era la 2-desoxi-2-amino-N,N'-di-ciclohexil- α -D-linopiranosilamina (176) de conformación 1 C.



175



176

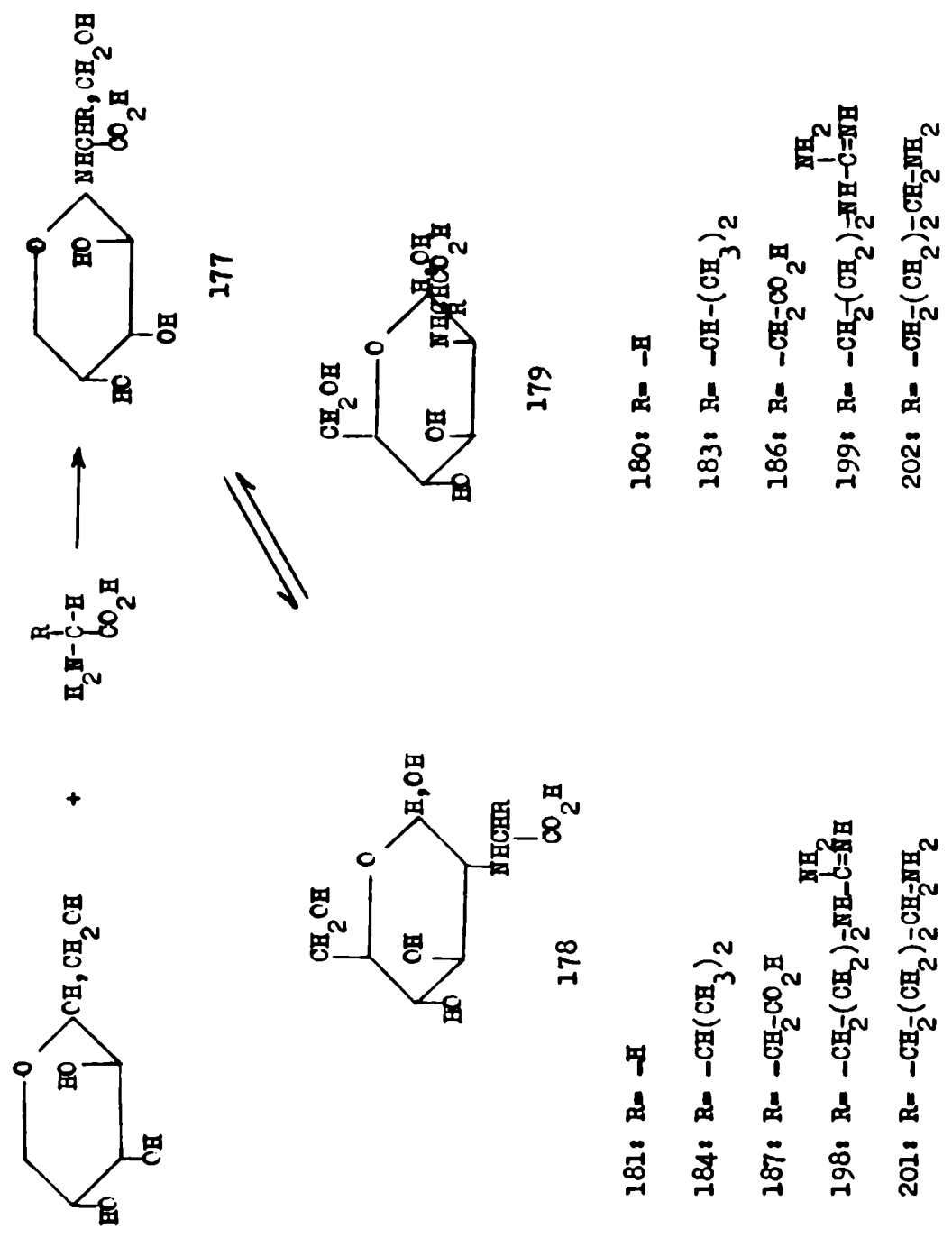
Acercas del estudio de la reacción de cetosas con aminoácidos cabe destacar los trabajos realizados por Heyns y colaboradores.

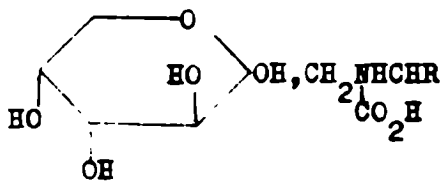
En la reacción de la D-fructosa con aminoácidos como glicina, L-alanina, D-alanina, β -alanina y L-leucina en metanol se obtuvo por transposición de los N-D-fructosilaminoácidos (177), las correspondientes 2-desoxi-2-aminoácido-D-glucosa (178) y 2-desoxi-2-aminoácido-D-manosa (179)¹⁴⁵ (ver esquema XXX).

Con ácidos orgánicos acuosos en caliente se produjo la descomposición de los compuestos 178 dando D-fructosa y los aminoácidos correspondientes. La aparición de la D-fructosa mostró sin lugar a dudas que no se había producido una hidrólisis, sino una verdadera transposición retrocetosilaminica. Esta transposición no se limita a los derivados N-sustituídos de la D-glucosamina, sino que por calentamiento del clorhidrato de D-glucosamina con ácido acético 2 N a 115° se obtuvo D-fructosa.

Posteriormente Heyns y colaboradores¹⁴⁶ realizaron un estudio cuantitativo de la reacción de hexosas con aminoácidos y determinaron que para el caso de D-fructosa y glicina, en metanol a 65°, a la media hora de iniciada la reacción se producía manosa-glicina (180) y glucosa-glicina (181).

Las cantidades de ambos productos aumentaron rápidamente. La concentración máxima para manosa-glicina se alcanzó después de las 12 hs, mientras que para glucosa-glicina después de las 24 hs. Si bien la concentración inicial de manosa-glicina es mayor que la de glucosa-glicina, en el máximo respectivo la cantidad de esta última es casi el doble de la primera. Los autores determinaron también la formación de fructosa-glicina (182) que se formó con posterioridad y cuya concentración permaneció siempre menor que la de las dos anteriores.





182: R= -H

185: R= -CH-(CH₃)₂

188: R= -CH₂-CO₂H

200: R= -CH₂-(CH₂)₂-NH-C(=NH)
NH₂

Después de alcanzar el máximo, la concentración de las tres sustancias disminuyó y paralelamente se produjo un fuerte oscurecimiento, dando un material oscuro e insoluble.

La reacción de L-alanina con D-fructosa en las mismas condiciones sugirió un esquema similar al anterior; con β-alanina, en cambio se obtuvo un rápido pardeo y ya antes de la hora de reacción se produjeron grandes cantidades de los tres azúcares-β-alanina.

Estos estudios demostraron que la cantidad relativa de los tres azúcares-aminoácido dependía del tiempo de reacción.

Dado que se comprobó experimentalmente que las aldosas-aminoácido daban fructosa-aminoácido, se puede suponer que este compuesto no es un producto primario sino secundario que podría producirse mediante un reordenamiento de las aldosas-aminoácido. Experimentalmente se comprobó que en forma análoga la fructosa-glicina que había sido considerada estable se transpuso a aldosa-glicina probablemente por un camino inverso semejante al anterior.

El tiempo necesario para disminuir la concentración del azúcar-aminoácido al medio, se denomina tiempo medio de descomposición y daría una medida de hasta qué punto el compuesto sería un intermediario

en la formación de melancoidinas. Valores bajos del tiempo medio significarían una alta velocidad de transformación. Los valores bajos en el caso de manosa-glicina indicarían que en la formación de melancoidinas durante la interacción de D-fructosa con glicina sería importante el paso de formación del derivado de manosa.

La reacción de la D-fructosa con ácido γ -aminobutírico, L-valina, ácido ϵ -aminocaprónico, L-fenilalanina, L-tirosina, L-asparagina y ácido L-glutámico, en metanol, también produjo por reordenamiento glucosa-aminoácidos (178) y manosa-aminoácidos (179)¹⁴⁷. El estudio cuantitativo de la reacción de D-fructosa con L-valina¹⁴⁶ demostró que se producían cantidades iguales de manosa-valina (183) y glucosa-valina (184). Se produjo también fructosa-valina (185) cuya concentración al comienzo fue pequeña, pero a las 24 h fue el producto principal de la reacción (ver fig. 1).

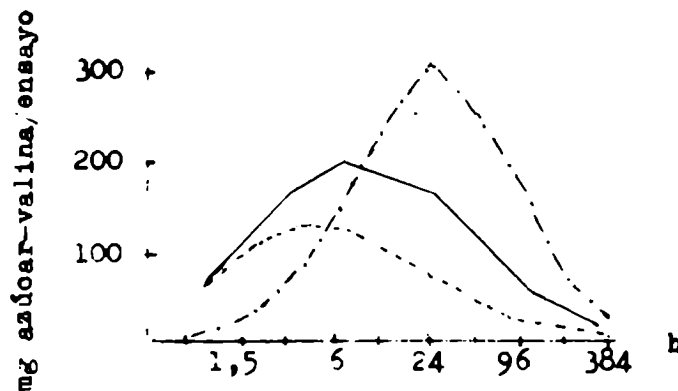
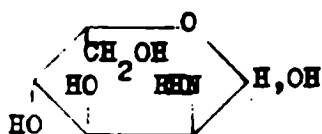


Figura 1

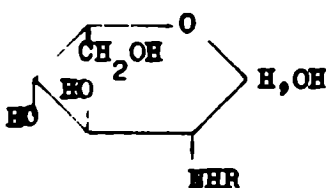
- : glucosa-valina
- - - : manosa-valina
- · · · : fructosa-valina

La reacción de ácido glutámico con D-fructosa tuvo lugar más fácilmente cuando uno de los grupos carboxilo se neutralizó con la cantidad equimolecular de metóxido de sodio. Cuando se partió de monoglutamato de sodio predominó durante todo el transcurso de la reacción manosa-glutámico (186) frente a glucosa-glutámico (187). La fructosa-glutámico (188) se encontró presente desde el principio de la reacción y su cantidad llegó hasta 1/4 del total de los derivados formados.

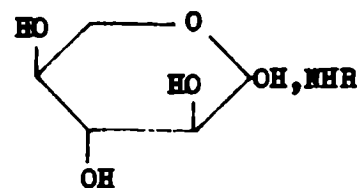
Análogamente, en la reacción de la L-sorbosea con glicina, se encontró: L-glucosa-glicina (189), L-idosa-glicina (190) y L-sorbosea-glicina (191)¹⁴⁷.



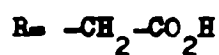
189



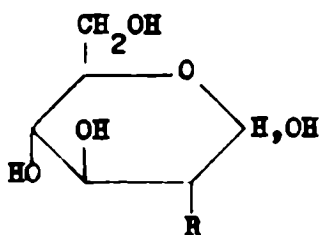
190



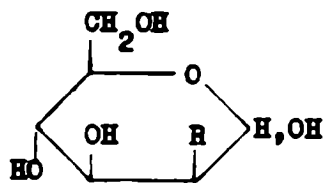
191



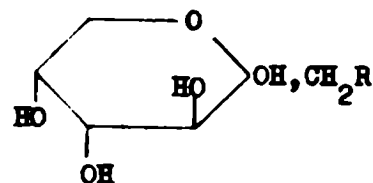
Cuando se hizo reaccionar D-fructosa con L-prolina¹³⁷ se obtuvo D-glucosa-prolina (192), D-manosa-prolina (193) y fructosa-prolina (194).



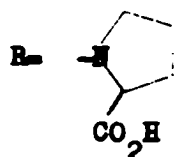
192



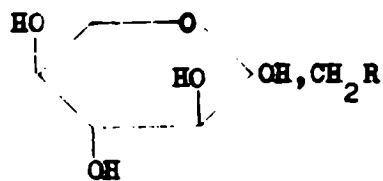
193



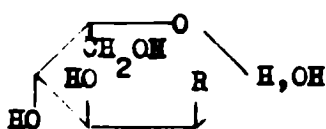
194



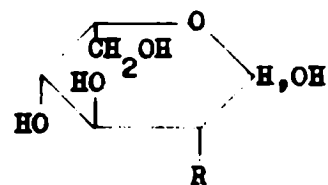
La interacción de L-sorbose con L-prolina dió en cambio, L-sorbose-prolina (195) en mayor proporción y solo muy poca cantidad de L-gulosa-prolina (196) y L-idosa-prolina (197).



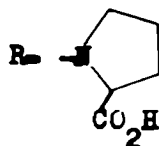
195



196



197



Con aminoácidos cuyo grupo amino estaba en una posición distinta de la α , como en el caso del ácido ϵ -aminocaprónico, γ -aminobutírico y β -alanina, se demostró^{145,147} que los ω -grupos reaccionaban más rápidamente que los α -aminogrupos.

Se estudió también la interacción de aminoácidos básicos con D-fructosa¹⁴⁸.

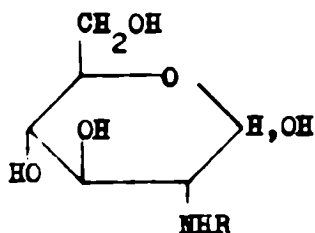
Así, por interacción del clorhidrato de L-arginina con D-fructosa en metanol se obtuvo glucosa- α -arginina (198) y manosa- α -arginina (199), junto con una pequeña cantidad de fructosa- α -arginina (200). Cuando el tiempo de reacción fue más prolongado aumentó el rendimiento del derivado de fructosa. Esto significa que este compuesto se formaría a través de una reacción secundaria de 198 y 199 mediante una segunda reacción del tipo de Amadori. En dimetilsulfóxido la interacción de la L-arginina con D-fructosa condujo al compuesto 198 exclusivamente.

La glucosa- α -arginina y la manosa- α -arginina por tratamiento con ácido acético 2N mostraron un reordenamiento e hidrólisis dando fructosa y L-arginina.

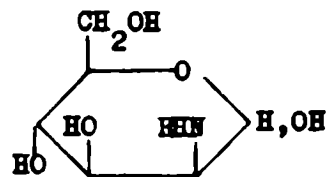
Mediante un tratamiento con arginasa se demostró que en los compuestos hexosa-arginina el hidrato de carbono estaba unido al grupo α -amino de la arginina.

El estudio detallado de la reacción de D-fructosa con L-lisina mostró la formación de los seis azúcares-lisina monosustituídos¹⁴⁶ posibles.

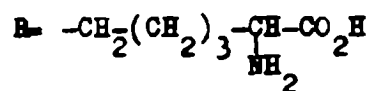
Se formó primero glucosa- α -lisina (201) y manosa- α -lisina (202) mientras que glucosa- ϵ -lisina (203) y manosa- ϵ -lisina (204) se produjeron en menor cantidad. Después de las 24 hs se pudo comprobar que predominó glucosa- ϵ -lisina.



203



204



Las monohexosas-lisina reaccionaron con D-fructosa dando una mezcla de derivados de dihexosa-lisina. Cuando la reacción se llevó a cabo en dimetilsulfóxido solo se observaron 201 y 202. Las aldosas- ϵ -lisina y las fructosas- α y ϵ -lisina sólo se produjeron en pequeña concentración.

En la reacción de la D-xilulosa (175) con ácido ϵ -aminocaprónico o con β -alanina, se obtuvieron, mediante el reordenamiento del cetosilaminoderivado, únicamente los derivados de las correspondientes aldosas epímeras en C-2.

CAPITULO IV

IV- FORMACION DE SUSTANCIAS POLIMERICAS COLOREADAS A PARTIR DE HIDRATOS DE CARBONO Y AMINO COMPUESTOS.

La formación de sustancias poliméricas coloreadas, es un aspecto sumamente complejo de las reacciones en las que intervienen hidratos de carbono, debido a los diferentes reactivos y reacciones, y a las diversas variables que pueden estar involucrados.

Según Hodge¹⁴⁹ existirían tres tipos fundamentales de reacciones de formación de polímeros coloreados:

- 1° - El oscurecimiento producido por la reacción de compuestos carbonílicos con aminas (generalmente llamado reacción de Maillard cuando el compuesto aminado es un aminoácido, un polipéptido o una proteína¹⁵⁰).
- 2° - La caramelización que ocurre cuando compuestos polihidroxycarbonílicos se calientan a temperaturas relativamente altas. Esta reacción tiene lugar aún en ausencia de catalizadores, pero se ha comprobado que los ácidos carboxílicos y sus sales, las bases, los fosfatos y los iones metálicos actúan como aceleradores.
- 3° - El oscurecimiento observado frecuentemente en alimentos, que proviene de reacciones de oxidación que pueden o no ser catalizadas por enzimas.

La presencia de grupos carbonilo libres es necesaria para la producción de color, ya que se ha comprobado que los compuestos polihidroxilados¹⁵¹ y los azúcares en los cuales la función carbonilo está bloqueada¹⁵¹⁻¹⁵⁵ no producen color.

Entre las variables más importantes que influyen en la reacción es necesario tener en cuenta:

- a) el contenido en agua¹⁵⁶⁻¹⁵⁹
- b) el pH de la reacción^{158, 160-162}
- c) la temperatura^{152, 158, 161}

d) el tiempo ^{158,161,163}

e) la presencia de inhibidores ^{158,164-166}

En esta revisión se considerarán principalmente los estudios realizados sobre las reacciones de compuestos carbonílicos con aminas.

Hodge¹⁴⁹ postuló que se producirían siete tipos de reacciones diferentes que podrían ser clasificadas dentro de tres etapas de desarrollo:

1° - Etapa inicial

A- Condensación azúcar-amina.

B- Transposición.

2° - Etapa intermedia

C- Deshidratación del azúcar.

D- Fragmentación del azúcar.

E- Si intervienen aminoácidos, degradación de los mismos.

3° - Etapa final

F- Condensación aldólica.

G- Polimerización aldehído-amino; formación de compuestos heterocíclicos nitrogenados.

1° ETAPA INICIAL:

La etapa inicial involucraría la condensación de la amina con el grupo carbonilo del azúcar y la posterior transposición de Amadori del glicosilamino derivado N-sustituido. El reordenamiento podría detenerse en la forma 1,2-enólica de la glicosilamina como postuló Gottschalk¹⁶⁷⁻¹⁶⁹.

En el estudio de la condensación de glicina con varias aldosas se demostró que la facilidad de apertura del anillo hemiacetalico es un factor importante para que pueda verificarse la condensación. Además es necesario destacar que las glicosilaminas sustituidas en el hidroxilo del C-2 permanecieron inalteradas aún después de largo tiempo, esto indicaría que bloqueando la transposición de Amadori, se impide la formación de compuestos coloreados¹⁴⁹. > Ver.

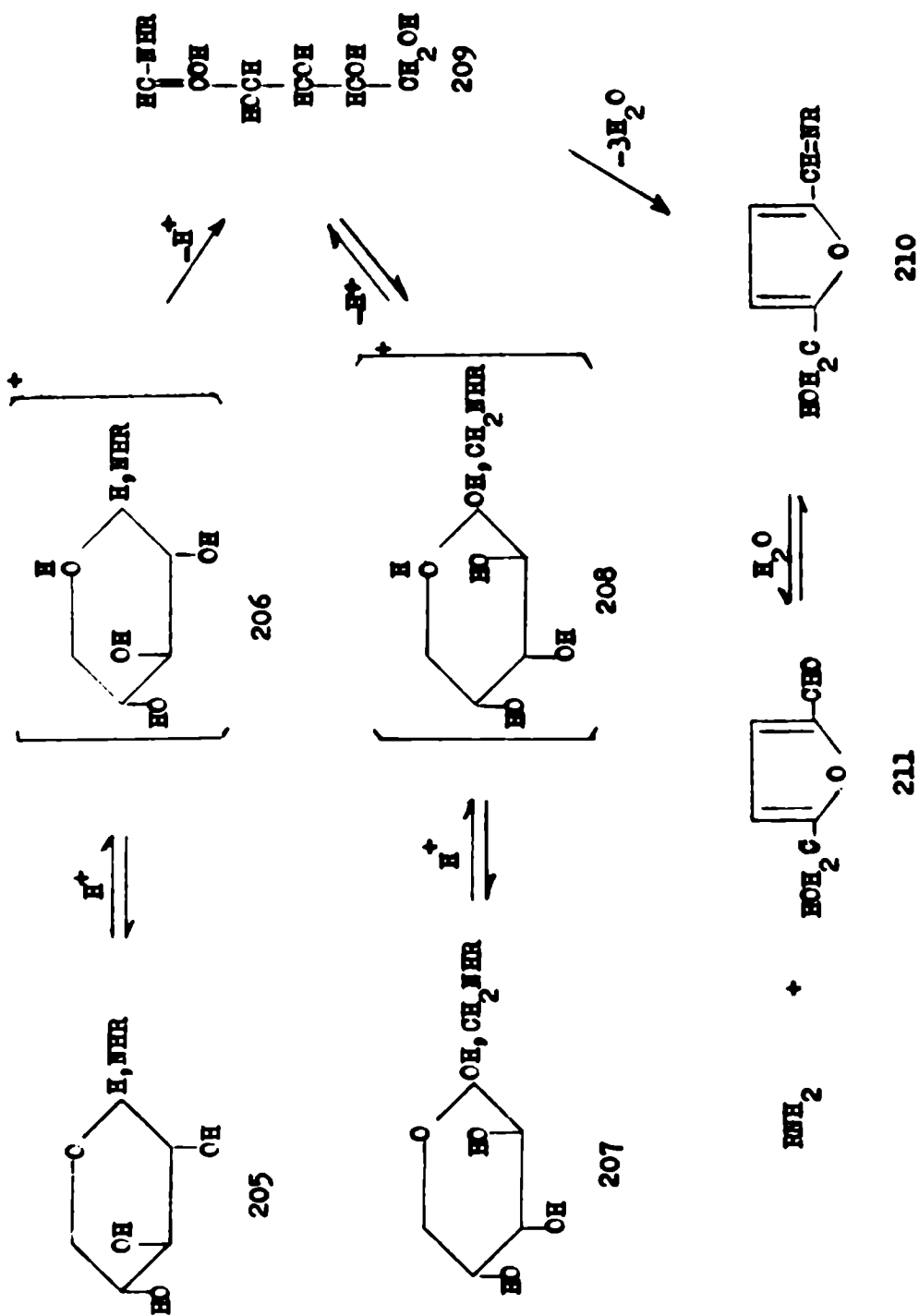
Como se vió anteriormente, las cetosas también reaccionan con aminas alifáticas y aromáticas dando las cetosilaminas correspondientes que pueden sufrir, en forma análoga, la transposición de Heyns.

2° ETAPA INTERMEDIA:

En la etapa intermedia, antes que la solución comience a colorearse, muchos autores indicaron una fuerte absorción a 277-285 nm (región del furfural^{154,170-174} y de las aldminas α , β -no saturadas¹⁶⁶) y otra entre 225 y 230 nm debida posiblemente a la formación de un dieno acilico conjugado^{154,170,174}.

Esto significa que se habría producido deshidratación del azúcar obteniéndose compuestos no saturados. Esta deshidratación en medio ácido, conduciría preferentemente a la formación de furfurales. Gottschalk¹⁶⁸ postuló un mecanismo mediante el cual las fructosaminas N-sustituidas (207), en presencia de ácidos débiles se reordenarían dando, por pérdida ^{de} tres moléculas de agua, la base de Schiff (210) del 5-hidroximetilfurfural (211) la cual se hidrolizaría para dar 211 y la amina libre (ver esquema XXXI).

El pasaje de 207 a 211 mostró tener un pH óptimo. Presumiblemente la reacción involucraría un equilibrio ácido-base preliminar dando el ácido conjugado 208 el cual por pérdida de un protón se transformaría en la forma enólica 209.



Scheme XXI

Las glucosilaminas N-sustituidas (205) tratadas con ácido acético 2 N en caliente también dieron 211. En menor escala se produjo la reacción concomitante de hidrólisis a glucosa y base libre. La conversión de 205 a 209 puede considerarse irreversible ya que los N-glucosil-aminoácidos al igual que las N-arilglucosilaminas fueron convertidos en las fructosaminas correspondientes, mientras que la reacción inversa no fue observada.

La facilidad con que se produjo 211 a partir de 205 y 207 estaría condicionada por: a) la basicidad del grupo -NHR, la cual favorecería la formación de los ácidos conjugados 206 y 208, y b) la presencia en la forma enólica 209 de la estructura tautomérica móvil vinilamina. Es necesario destacar que la eliminación del nitrógeno en el C-1 de la fructosa disminuyó la formación de 211.

Posteriormente Feather y Russell¹⁷⁵ investigaron el mecanismo de la reacción de deshidratación de los productos de Anadori. Para ello, estos compuestos fueron convertidos en 5-hidroximetil-furfural en solución de agua deuterada usando ácido acético o ácido clorhídrico como catalizador. Por espectros de R.M.N. se determinó que la incorporación de deuterio solo se produjo en el carbono aldehídico y en posición 3 del anillo del furano.

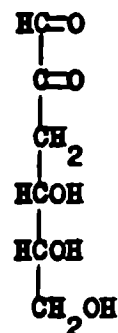
La incorporación de deuterio en el carbono aldehídico sería consistente con una enolización 1,2 reversible del producto de Anadori 212 como un primer paso de la reacción. La cantidad de deuterio incorporado podría depender de la basicidad de la amina, la fuerza del ácido o la reactividad de la forma enólica. La incorporación en la posición 3 se debería o a la enolización 2,3 reversible de 212 o al equilibrio entre 213 y 214 o sus correspondientes bases de Schiff. Estos compuestos 213 y 214 se obtendrían a partir de 212 a través de una hidrólisis y posterior deshidratación.



212



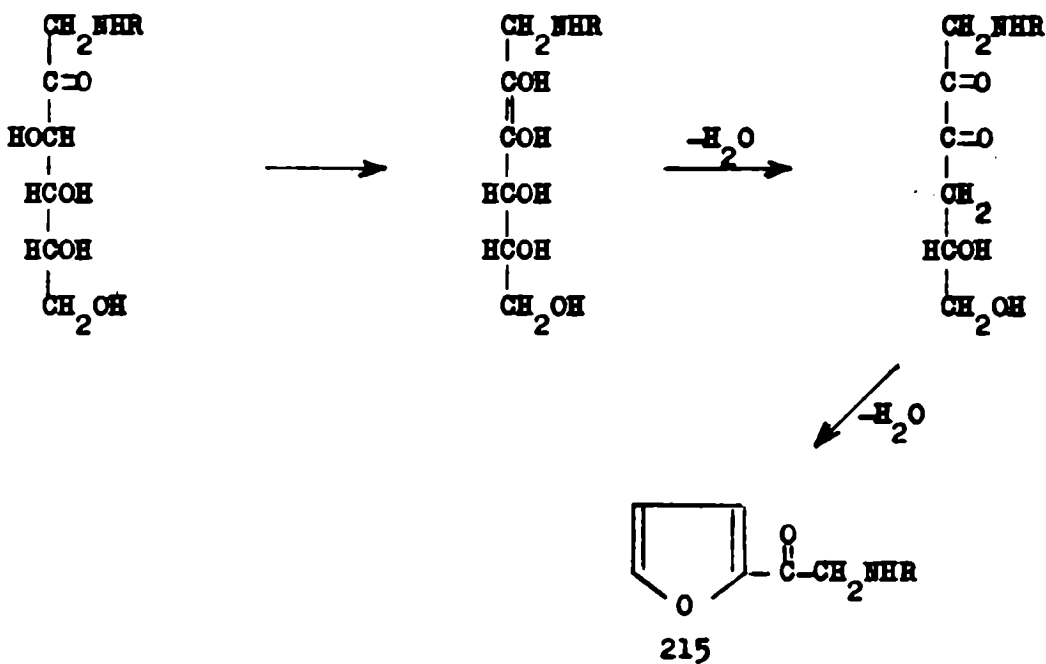
213



214

Es interesante destacar que se aislaron otros derivados del furano por reacción de hidratos de carbono con amino compuestos¹⁷⁶⁻¹⁷⁹.

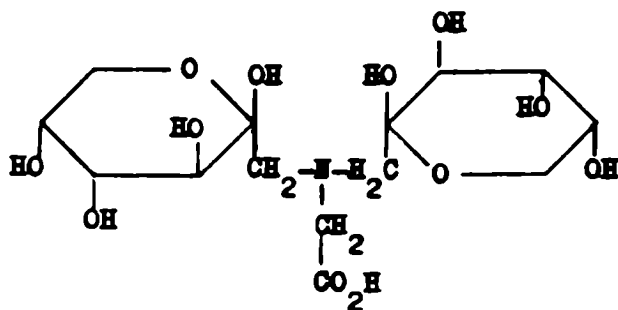
Así Heyns y colaboradores¹⁸⁰ a partir de 1-desoxi-1-amino-fructosas N-sustituidas en medio ácido obtuvieron los correspondientes derivados del acetilfurano (215) como intermediarios en la formación de productos coloreados, según el siguiente camino (ver esquema XXXII).



Esquema XXXII

Las desoxiosonas son intermediarios importantes no sólo en la obtención de derivados del furano sino también en la formación de sus tancias poliméricas coloreadas. Los principales estudios realizados al respecto fueron los de Kato quien aisló éstos compuestos como sus correspondientes 2,4-dinitrofenilhidrazonas a partir de las mezclas de reacción de pentosas o hexosas con amino compuestos^{163,181} o a partir de glicosilaminas N-sustituídas¹⁸². Además de las desoxiosonas Kato aisló la correspondiente 2,4-dinitrofenilhidrazona de la D-glucosona formada en las soluciones de degradación de los glucósidos N-sustituídos¹⁸³.

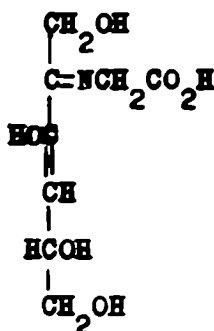
Las 3-desoxiosonas fueron también obtenidas por Anet¹⁸⁴ a partir de las dicetosaminas (216) aisladas en la reacción de aminas alifáticas primarias o aminoácidos con aldosas¹⁸⁵. La otra mitad de la dicetosamina se convertiría en compuestos carbonílicos.



216

Song y Chichester¹⁸⁶ hicieron una serie de consideraciones acerca del mecanismo de la reacción de formación de productos coloreados. Sostuvieron también que las formas hemiacetálicas de los hidratos de carbono son reactivas en la medida en que son inestables, y propusie

con un mecanismo de deshidratación que conduciría a la formación de aldiminas no saturadas. Así la D-glucosa se condensaría con aminoácidos para dar la correspondiente base de Schiff 217 que conduciría a las formas 218 y 219. Por deshidratación de 218 se obtendría la aldimina α , β - no saturada (220) (ver esquema XXXIII). Estas aldiminas absorben en el espectro U.V. en la misma región que el furfural. El hecho que la D-fructosa reacciona rápidamente con glicina puede ser explicado por un mecanismo análogo que conduciría a la correspondiente aldimina no saturada 221.

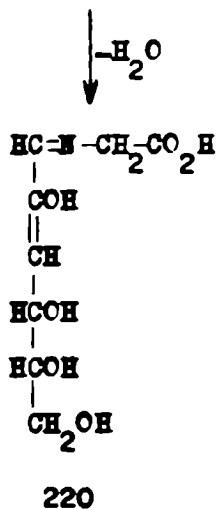
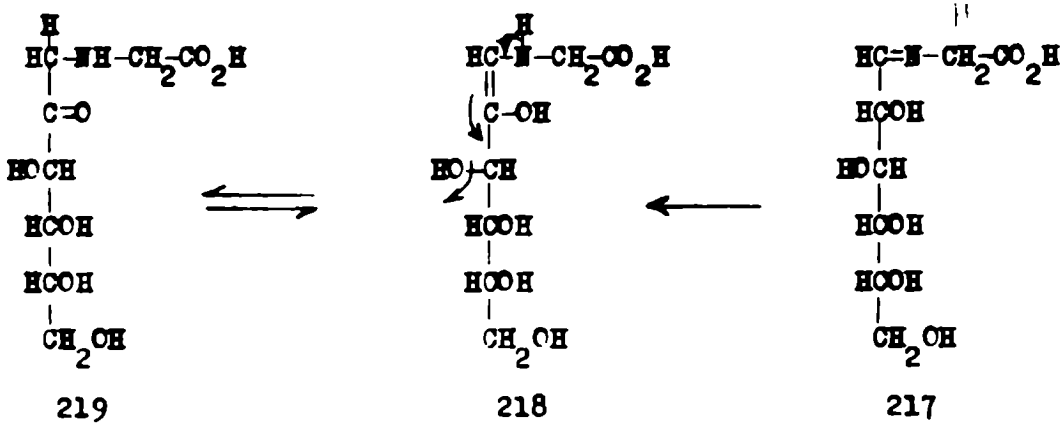
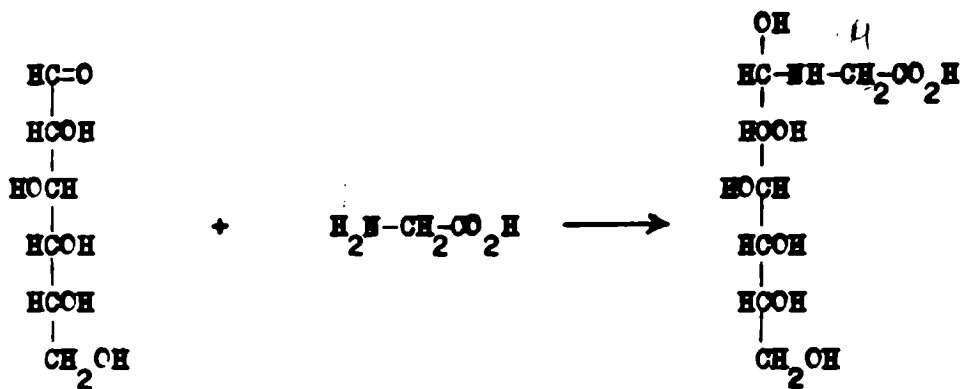


221

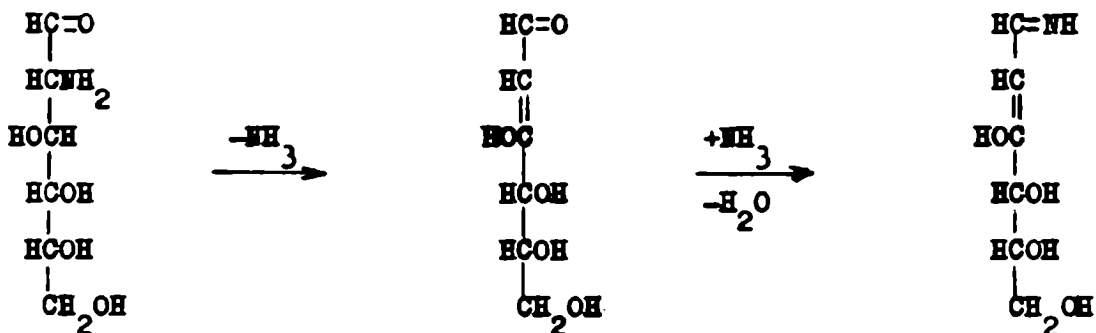
La elevada reactividad de la 2-desoxi-2-amino-D-glucosa en las reacciones de formación de productos coloreados también se explicaría por la producción de una aldimina α , β - no saturada (222).

Pseudo in situ
use.

-111-



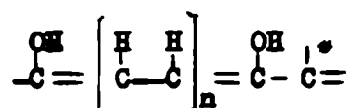
Esquema XXXIII



222

La deshidratación de azúcares también puede conducir a la formación de reductonas. Estas sustancias se obtuvieron generalmente en solventes no acuosos, en presencia de aminas, aunque en la literatura existen ejemplos de formación de reductonas en soluciones acuosas de glucosa a diversos pH¹⁸⁷, o en soluciones acuosas de D-glucosa o D-xilosa con glicina, amoníaco o n-butilamina¹⁸⁸.

Las reductonas poseen la estructura general 223,



223

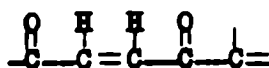
donde n=0 ó 1 y la no saturación indicada por el asterisco es frecuentemente, pero no siempre, la de un grupo carbonilo¹⁴⁹⁾.

La formación de polímeros coloreados a partir de reductonas pertenece a las reacciones de oscurecimiento oxidativas, debido a que la

forma deshidro de la reductona es la activa. Así las reductonas enediólicas forman fácilmente compuestos α -dicarbonílicos (224) por oxidación y las reductonas dienólicas forman compuestos dicarbonílicos conjugados (225).

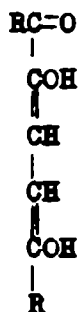


224



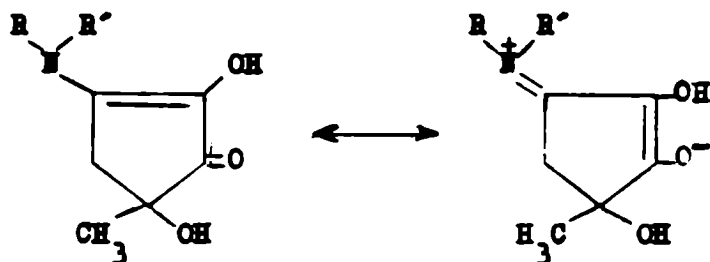
225

Se comprobó que los derivados del furfural por ruptura hidrolítica del anillo podrían dar la estructura dienólica conjugada (226) característica de las reductonas¹⁸⁹.



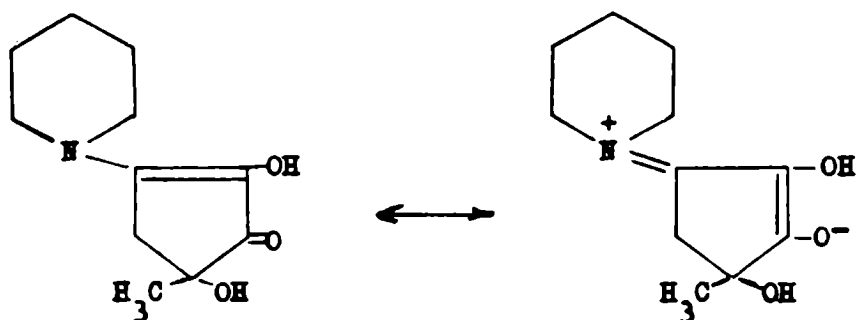
226

En general el calentamiento de una aldo o cetohecosa (glucosa, galactosa, manosa, fructosa, sorbosa) con una sal de amina produjo amino-hexosa reductonas^{137,158,190} con la estructura 227.

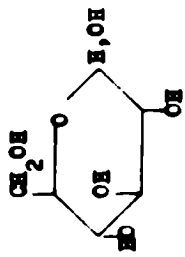


227

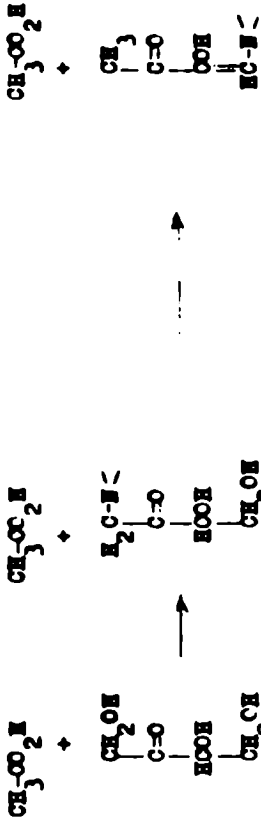
Una de las reductonas más estudiadas fue la piperidino hexosa reductona (162). Simon¹⁹¹ empleando glucosa marcada en C-1 ó en C-6, determinó que el grupo metilo de 162 provenía en un 28% del C-1 y en un 72% del C-6 del azúcar original. Ello indicaba que los carbonos restantes del ciclo pentaatómico de 162 podrían provenir cada uno de dos átomos de la molécula de glucosa. Simon y Heubach¹⁹², basándose en estos estudios propusieron un mecanismo para la formación de reductonas de 4 y de 6 C (ver esquema XXXIV).



162

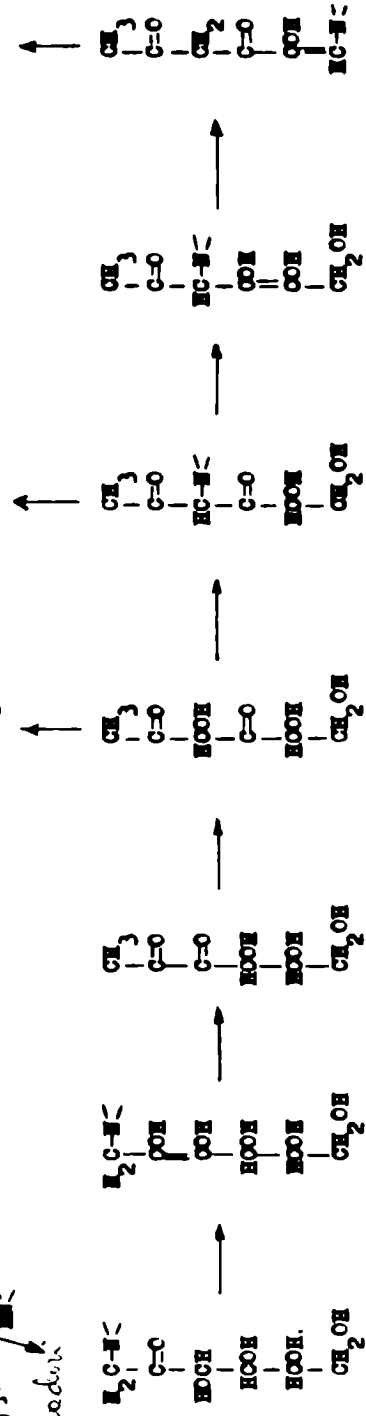


Strukturformel
des D-Glucose



236

230



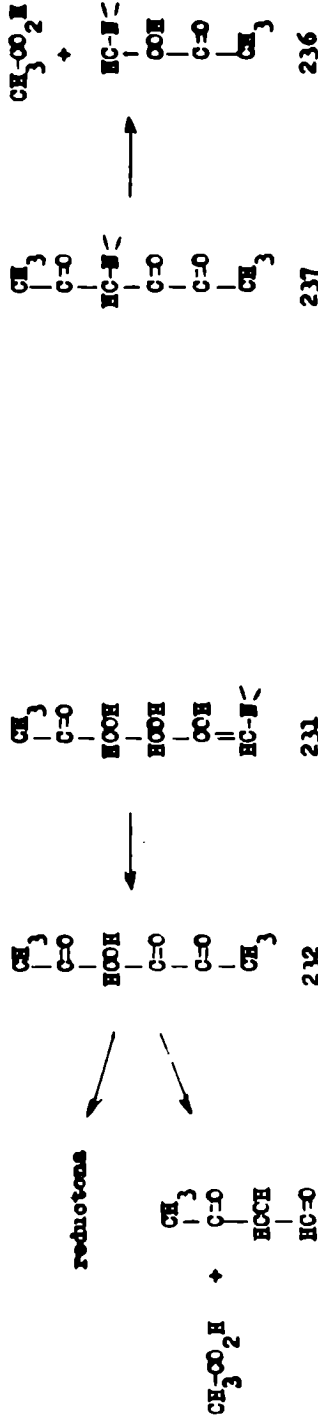
235

229

228

233

234



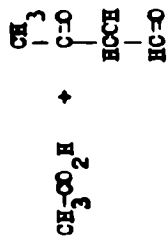
236

231

232

237

reductions

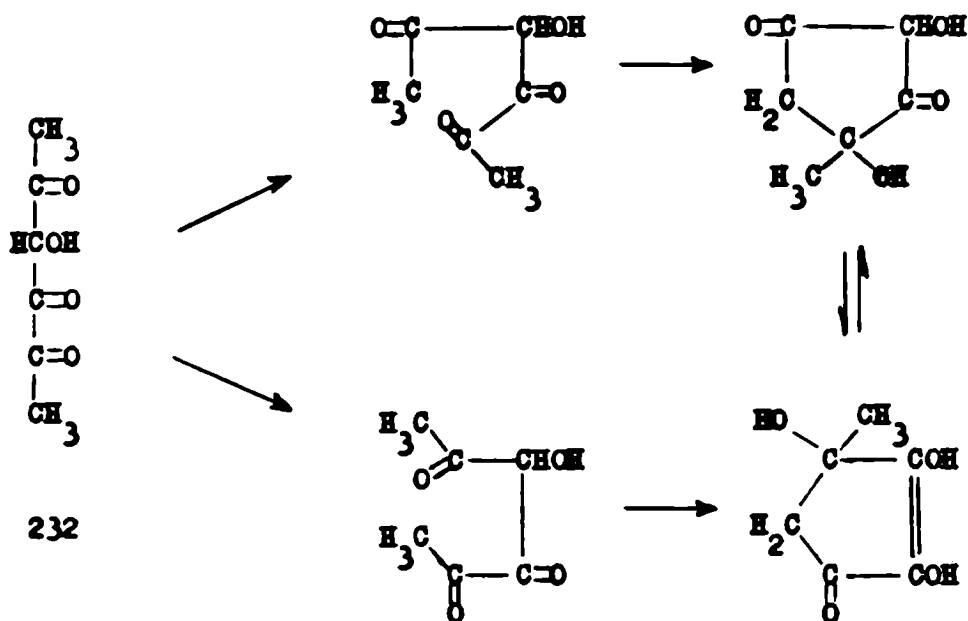


La transposición de Amadori catalizada por aminas sería el primer paso para la ulterior enolización irreversible entre el C-2 y el C-3 del azúcar. Mientras que la enolización C-1-C-2 es rápida y reversible (la cual por ulterior eliminación de un grupo hidroxilo en posición alílica conduce a una 3-desoxi-hexosona, que daría derivados del furano), la enolización al C-3 es irreversible dado que conduce fundamentalmente por fácil eliminación de la amina en posición alílica a la 1-desoxi-hexosona (228). Este producto α -dicarboxílico daría el compuesto β -dicarboxílico (229) que produciría ácido acético y la correspondiente cetotetrosa (230). El compuesto 229 a través de 231 daría la diacetilformosina (232) de la cual se obtendría la reductona .

La diacetilformosina (232) puede también descomponerse de modo que el C-6 de la hexosa daría el metilo del ácido acético. Es decir que en estas transformaciones la amina catalizaría tanto la enolización como la ruptura del compuesto 232.

Por reacción de la amina con el hidroxilo del C-4 de 229 se puede formar 233 que a través de 234 y 235 daría el compuesto 236. El mismo compuesto se obtendría a partir de 229 a través de 230. El camino principal para la formación de 236 sería vía los intermedios 233 , 234 y 237.

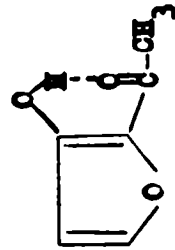
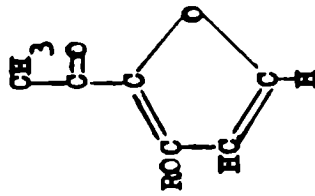
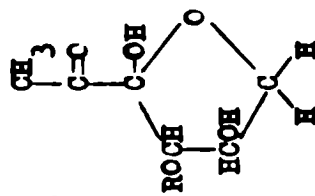
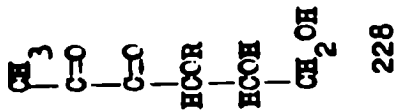
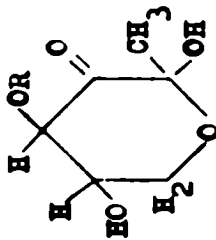
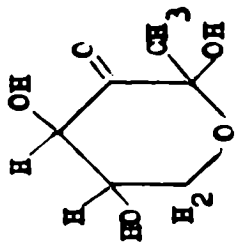
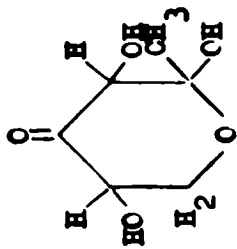
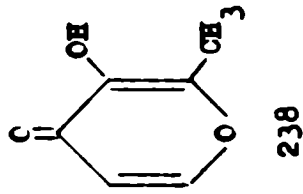
El mecanismo propuesto por Simon¹⁹¹ para obtener la reductona a partir de la diacetilformosina se muestra en el esquema XXXV.



Esquema XXIV

Hodge y colaboradores^{190,193} comprobaron que a partir de lactosa o de maltosa en las condiciones de formación de reductonas se forma maltol (238) e isomaltol (239) (ver esquema XXXVI). En estos casos el pasaje de 228 a 229 no sería posible ya que el hidrógeno del hidroxilo en el C-4 está sustituido por el resto galactosilo o glucosilo respectivamente. Debido a ello el compuesto 228 sustituido en el C-3 se ciclaría a 3-hidroxil-2-metil-4-pirona (maltol, 238) y (3-hidroxil-2-furil) metil cetona (isomaltol, 239).

En la degradación alcalina de azúcares reductores se produjo también triosareductona (240)¹⁹⁴ la cual, por analogía con otras reductonas, cabría esperar que origine reacciones de condensación para dar polímeros coloreados vía la formación de la forma deshidro: el dialdehído mesoxálico (241).

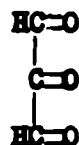


R= resto gluco- o galactosillo

Esquema XXXVI

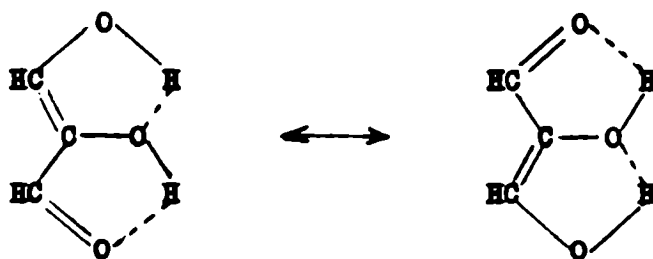


240



241

Por medio de espectros de R.M.N., I.R. y Rayos X se determinó que el compuesto 240 existiría en sus formas de resonancia 242¹⁹⁵.

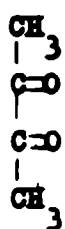


242

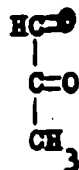
En la etapa intermedia de las reacciones de formación de melanoidinas, además de la deshidratación puede producirse la fisión del azúcar por un proceso de desaldolización^{84,87,169,196,197}.

Entre los productos de fisión los más altamente reactivos frente a los amino compuestos son: el aldehído glicólico (65)^{198,199}, la acetoina (243)¹⁹⁹, el aldehído pirúvico (55)¹⁶², el gliceraldehído (57)^{162,198}, el diacetilo (52)^{162,199}, la dihidroxiacetona (66)²⁰⁰,

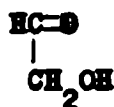
el acetaldehído²⁰¹.



52



55

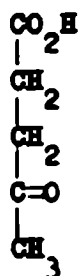


65



243

Los cetoácidos son en general muy poco reactivos tal como sucede con el ácido pirúvico¹⁶² y el ácido levalínico (244)¹⁵⁴, mientras que los ácidos sacarínicos, el ácido láctico y el ácido acético no reaccionan con amino compuestos¹⁴⁹.

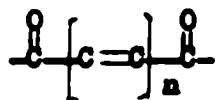


244

El ácido fórmico no dió reacciones de oscurecimiento y el formaldehído no sólo es inactivo sino que actúa como inhibidor^{202,203}.

En las reacciones de formación de polímeros coloreados en las que intervienen α -aminoácidos tendría también lugar la degradación de Strecker. Se demostró^{204,205} que los compuestos dicarbonílicos

que poseían la estructura 245



245

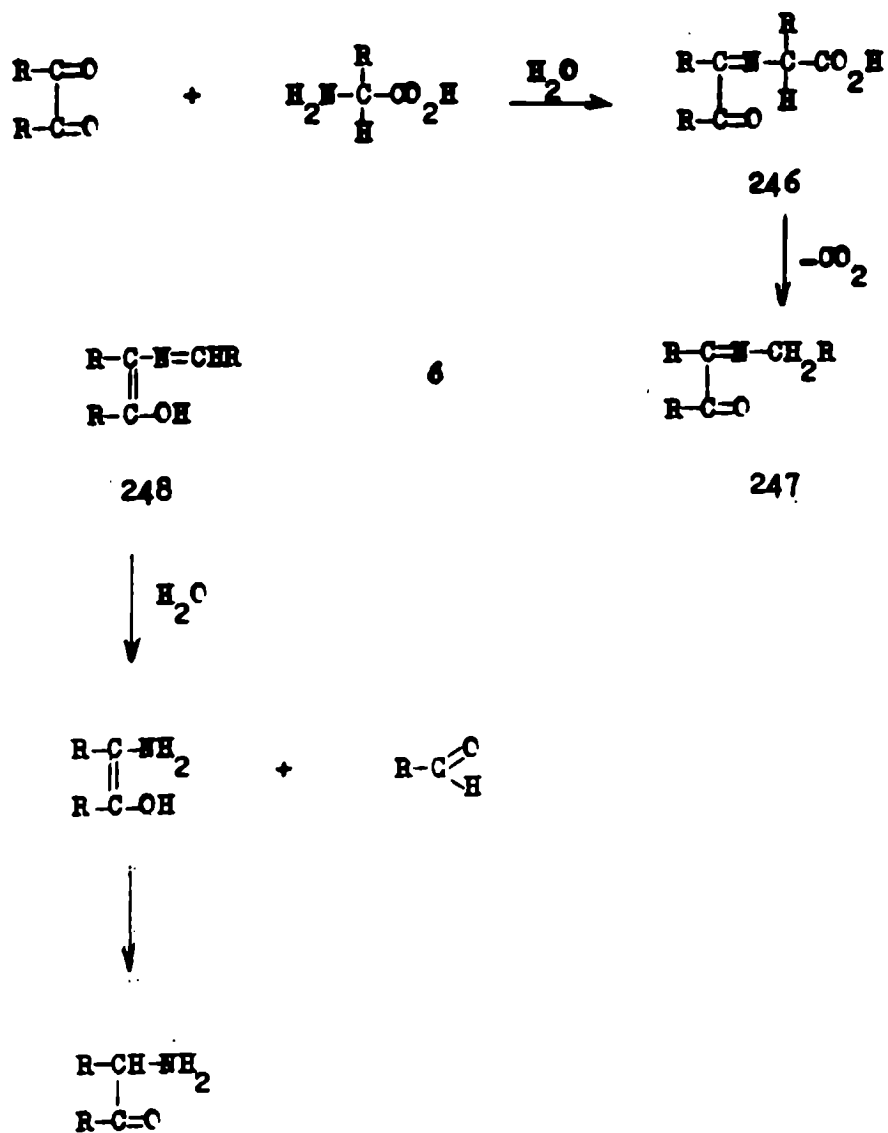
donde n era 0 ó un número entero eran capaces de iniciar esta degradación. Resultaron también reactivos los compuestos con estructuras que pueden ser convertidas fácilmente en dicarboxílicas, como las reductonas o las iminas α, β -no saturadas.

La degradación comensaría con la formación de la correspondiente base de Schiff (246), la cual perdería luego anhídrido carbónico dando la base de Schiff (247) con un grupo carbonilo en posición α a la doble ligadura carbono-nitrógeno o su forma enólica (248). La hidrólisis de esta última conduciría al aldehído y al amino compuesto correspondiente (ver esquema XXVII).

Cabe destacar que esta transaminación sería una reacción importante para la incorporación del nitrógeno en la formación de polímeros coloreados.

Los hechos que confirman este mecanismo son: a) se liberó muy poco amoníaco en la reacción de aminoácidos con hidratos de carbono²⁰⁶ y b) se determinó que casi la totalidad del anhídrido carbónico generado provenía del grupo carboxilo del aminoácido^{207,208}.

Debido a que la reacción de hidratos de carbono con glicina (que por la degradación de Strecker daría formaldehído que actuaría como inhibidor) oscureció tan rápidamente o más rápido que con alanina



Esquema XXXVII

(que daría acetaldehído) se dedujo que la degradación de Strecker no sería la reacción más importante en la producción de color. Además los ácidos aminados en un carbono diferente del α , que no serían activos en esta degradación, reaccionaron más rápidamente con azúcares reductores para producir polímeros coloreados que los correspondientes α -aminoácidos^{146,169}. Por consiguiente esta degradación sería una reacción posible e importante pero no esencial en la formación de melanoidinas.

3° - ETAPA FINAL:

En la etapa final de la reacción los intermediarios principales se condensan formando polímeros no saturados y coloreados. Las reacciones principales involucradas serían: la condensación aldólica, la polimerización aldehído-amino y la formación de compuestos heterocíclicos nitrogenados.

La condensación aldólica es una reacción altamente probable²⁰⁹ ya que en las reacciones de formación de compuestos coloreados se forma gran cantidad de compuestos carbonílicos generados ya sea por ruptura de las dihexosaminas²¹⁰, por deshidratación, por fisión del azúcar o por degradación de Strecker.

Además de la aldolización, los compuestos carbonílicos formados sufrirían condensación con sustancias aminadas para dar polímeros vía la formación de aldminas o oetiminas intermediarias¹⁴⁹. Tanto los derivados del furano como las deshidro-reductonas y los compuestos carbonílicos generados ya sea en la etapa intermedia de la reacción o a través de condensaciones aldólicas, pueden producir condensación con amino compuestos para dar productos finales coloreados.

Song y Chichester¹⁸⁶, que como se dijo anteriormente, propusieron

la formación de aldminas α , β -no saturadas como paso inicial de la reacción, sugirieron un probable mecanismo de polimerización. La oxidación (transferencia de un ión hidruro) y la descarboxilación es tarían de acuerdo con los resultados experimentales (ver esquema XXXVIII).

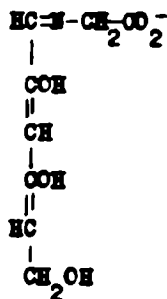
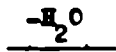
A causa de la similitud en la composición y en las propiedades de los productos de polimerización provenientes de la reacción de la glicina con glucosa, manosa, xilosa, furfural o aldehído pirúvico, se supuso que todos derivaban de intermediarios similares; sin embar go, se describieron diferencias significativas entre los productos obtenidos de furfural-glicina (alto contenido de uniones etéreas), glucosa-glicina (alto contenido de hidroxilos alcohólicos) y aldehído pirúvico, glicina (alto contenido de hidroxilos enólicos y bajo contenido de uniones etéreas). Las melancoidinas de glucosa-glicina se consideró que ocupaban una posición intermedia entre los extremos re presentados por las melancoidinas de furfural-glicina y de aldehído pirúvico-glicina¹⁴⁹.

Se encontró que los polímeros producidos por acetaldehído y ami no compuestos no eran acídicos, contrariamente a lo ocurrido en el caso de los polímeros formados a partir de azúcares y aminas. Como es tos últimos poseían poder reductor su acidez podría ser causada prin cipalmente por hidroxilos enediólicos provenientes de las reductonas.

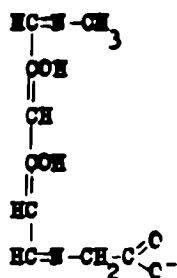
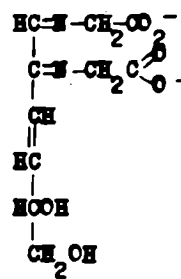
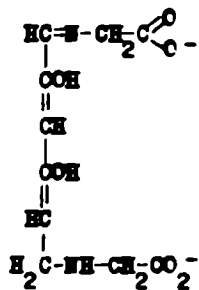
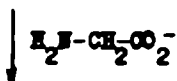
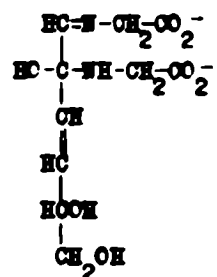
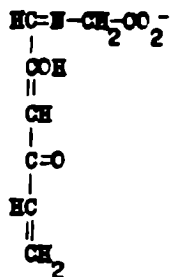
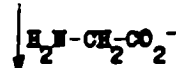
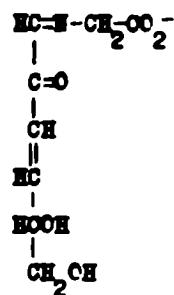
Los compuestos α -dicarbonílicos generados en las reacciones de azúcar-amina, podrían invaluar también la formación de quinonas y quinoniminas. Carson²¹¹ estudió la reacción del diacetilo con ciclohexi lamina a 0° y aisló la dicitlohexilimina del diacetilo (249) y un com puesto cristalino e incoloro al que atribuyó la estructura 250. Esta sustancia 250 se oscureció por exposición al aire húmedo a temperatu ra ambiente y se descompuso con formación de color en muchos solven-



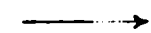
220



6

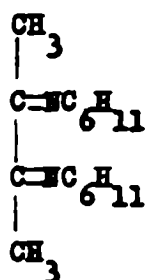


MELANOIDINAS

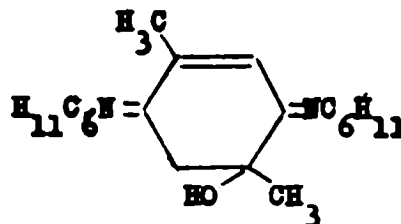


Esquema XLVIII

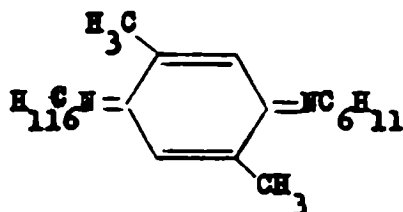
tes orgánicos. En metanol a 25° se deshidrató dando la 2,5-dimetil-p-quinondiciclohexilimina (251).



249



250



251

Devik²¹² describió entre los productos de la reacción de glucosa y aminoácidos la formación de N-nitrosaminas, compuestos que poseen propiedades cancerígenas y mutagénicas, pero posteriormente Heyns y Koch²¹³, repitieron las experiencias sin poder detectar los correspondientes derivados de las N-nitrosaminas.

A partir del estudio de diferentes sistemas donde se produjeron productos coloreados se determinó la presencia de compuestos heterocíclicos nitrogenados como imidasoles, piracinas, pirroles y piridinas^{76,78,179} que se supone podrían integrar las melanoidinas, pero cuya presencia en las mismas debe ser probada.

Los derivados imidasólicos y piracínicos se formarían, como se describió anteriormente, por condensación y ciclación de sustancias

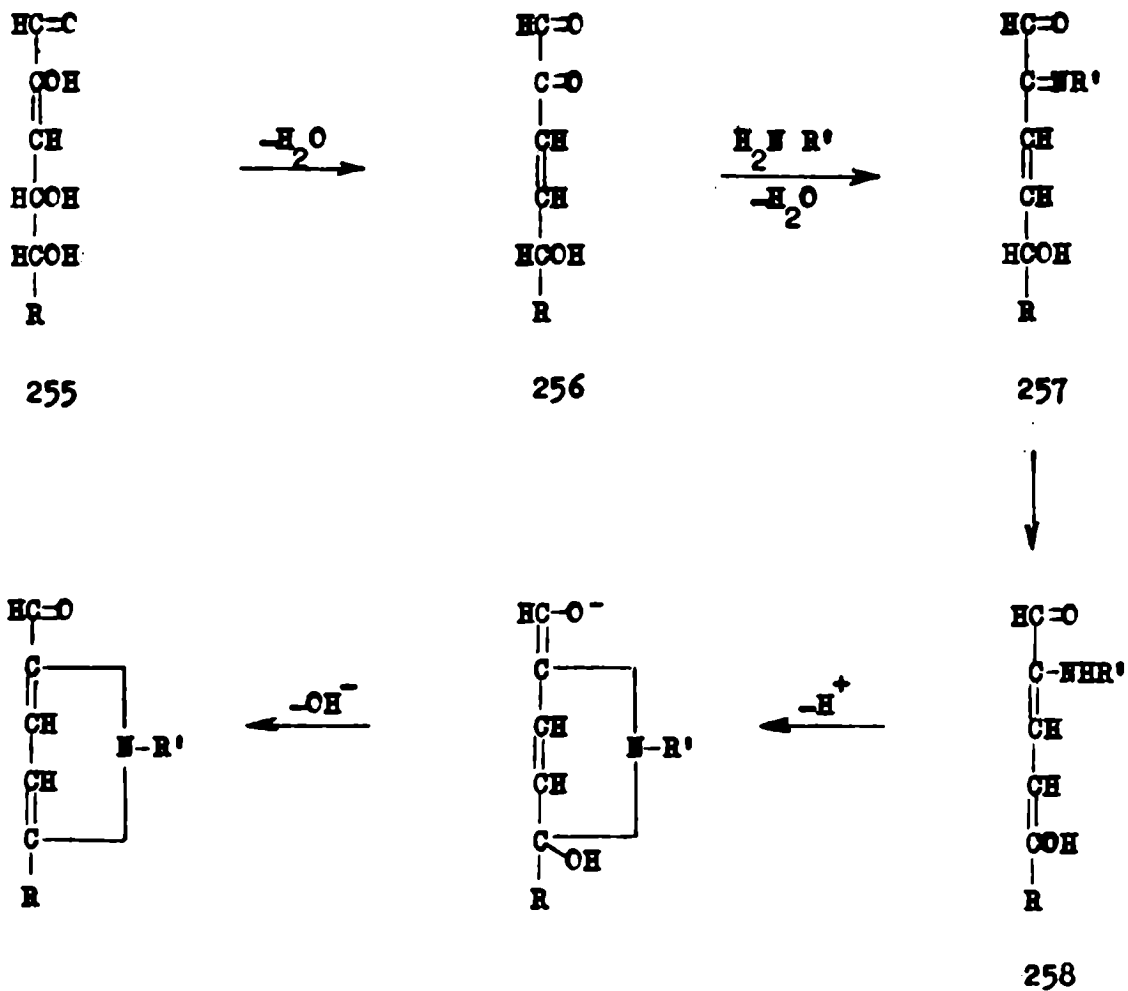
aminadas con compuestos carbonílicos ya sea derivados de los azúcares originales o de los productos de fisión de los mismos^{111,112,117,87,214}.

Kato²¹⁵ determinó la formación de N-butilpirrol-2-aldehído (252) a partir de una solución metanólica calentada a 55-70° de N-butil-D-xilosilamina, llevada a neutralidad con ácido acético. La D-xilosa y la metilamina en solución acuosa llevada a neutralidad y calentada a 65-100°, también produjeron el N-etilpirrol-2-aldehído (253).

Cuando se sometió la N-butil-L-ramosilamina a las condiciones anteriores se obtuvo el N-butil-5-metil-pirrol-2-aldehído (254), la N-butil-D-glucosilamina, en cambio, no dió derivados pirrólicos. Asimismo se comprobó que soluciones acuosas de D-xilosa y amoníaco llevadas a neutralidad y sometidas a diferentes condiciones no dieron por calentamiento cantidades detectables de 2-pirrolaldehído.

Para la formación de estos heterociclos se propuso un mecanismo que tendría lugar vía la deshidratación de la forma enólica de la 3-desoxiosona (255) que conduciría a la 3,4-didesoxiosona-3-eno (256). Anet^{216,217} determinó la existencia de los dos isómeros geométricos del compuesto 256. El C-1 formaría un anillo a través de un puente hemiacetalico en la forma cis y un hidrato en la forma trans, mientras que el carbonilo del C-2 estaría libre en ambos isómeros. Consecuentemente la condensación con el grupo amina ocurriría preferencialmente en el C-2 de 256. El imino derivado 257 produciría pirroles-2-aldehído N-sustituídos a través de un enaminaldehído 258 (ver esquema XXXIX).

La formación de derivados piridínicos a partir de mezclas de compuestos carbonílicos con aminas es conocida. La reacción de aldehídos con amoníaco también dió derivados de la piridina²¹⁸⁻²²⁰, pero tales reacciones se caracterizaron porque en ellas se formó una gran cantidad de productos de difícil separación.

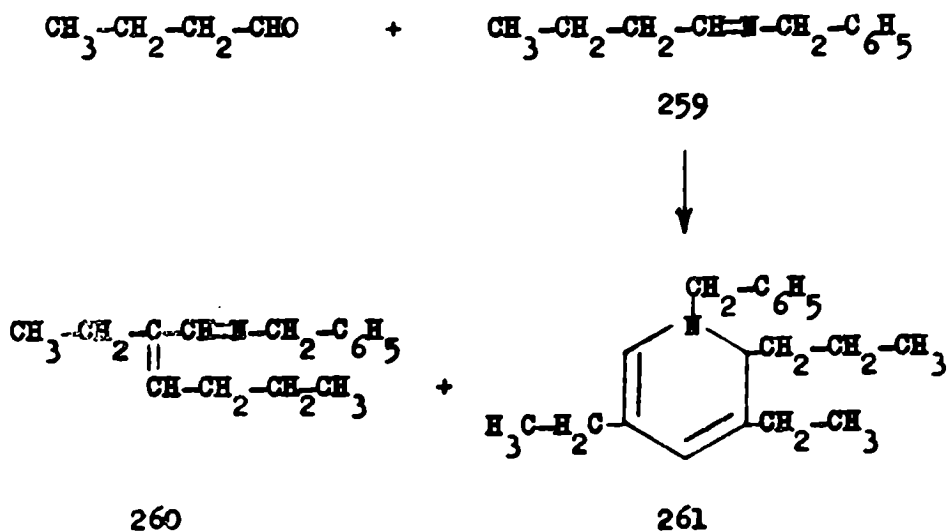


252: R = -H; R' = -CH₂(CH₂)₂CH₃

253: R = -H; R' = -CH₃

254: R = -CH₃; R' = -CH₂(CH₂)CH₃

Patrick²²¹ encontró que cuando una aldimina se trata con un aldehído alifático se obtenía una mezcla de 1,2,3,5-tetraalquil-dihidropiridina y N-alqueniliden-alquilamina con buen rendimiento. Así, al reaccionar butanal con N-butilidenbencilamina (259) se obtuvo la N-(2-etil-2-hexeniliden)-bencilamina (260) y la 1-bencil-3,5-dietil-2-propildihidropiridina (261).



Esto confirmaría la posibilidad de formación de derivados piridínicos por reacción de compuestos carbonílicos con las iminas producidas en el transcurso de la formación de polímeros coloreados.

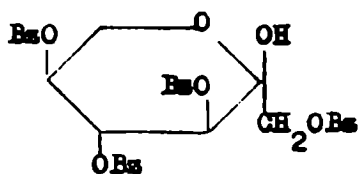
CAPITULO V

V-DESCRIPCION DE NUESTRAS EXPERIENCIAS E INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS.

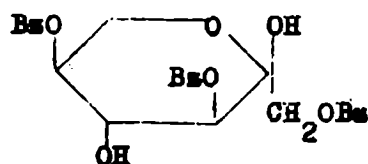
Síntesis y estructura de la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa

Por enfriamiento a -10° de una solución piridínica de L-sorbosa y posterior benzoilación a esa temperatura Paulsen y colaboradores⁴¹ obtuvieron un compuesto tetrabenzoilado de L-sorbosa. En esas condiciones, el equilibrio piranososa \rightleftharpoons furanosa \rightleftharpoons forma cetónica se desplaza lentamente hacia la forma piranósica, termodinámicamente más estable, obteniéndose la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (35) de p.f. 133° - 135° , $[\alpha]_D + 49,8^{\circ}$, con un rendimiento de 85%.

Nosotros hemos benzoilado la L-sorbosa, manteniendo la temperatura durante 5 h a -10° y obtuvimos la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (35) p.f. 134° , $[\alpha]_D + 49^{\circ}$, con un rendimiento del 23,4 %, y la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (262) p.f. 190° , $[\alpha]_D - 20,7^{\circ}$, con un rendimiento del 42,8 %.



35



262

La 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (35) presentó un espectro de resonancia magnética nuclear en Cl_3CD a 60 MHz análogo (Figura 2), excepto por los desplazamientos químicos, al publicado⁴¹

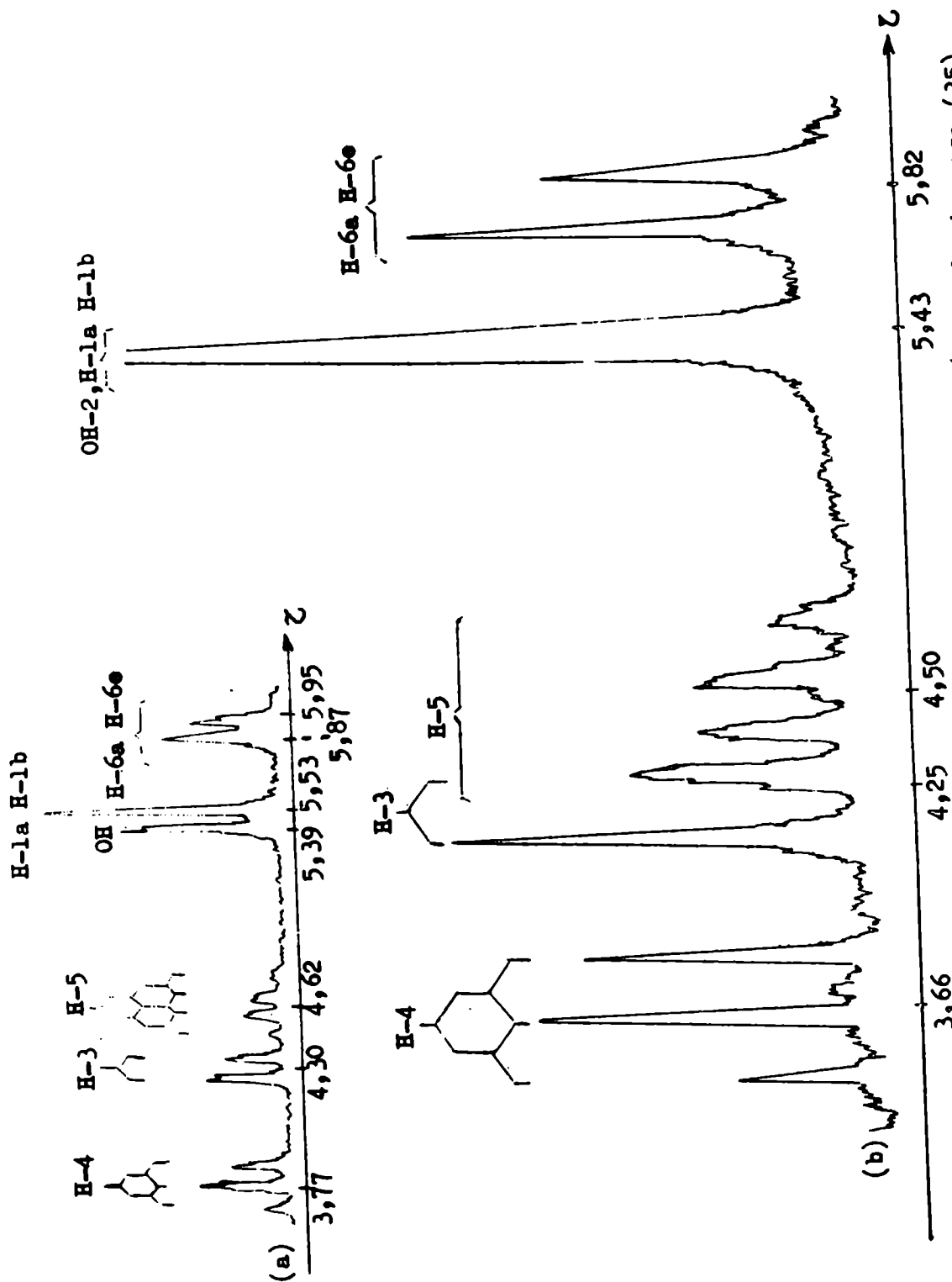
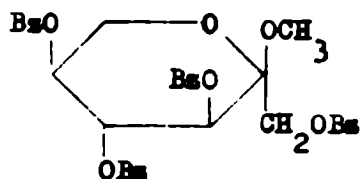


Figura 2.- Espectros de R.M.N. de la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbofuranosa (35), en Cl_3CD ; (a): a 100 MHz, (b): a 60 MHz.

a 100 MHz. Las diferencias, debidas a la diferente intensidad de campo empleado, residen en que a 60 MHz, H-5 aparece como un multiplete centrado en τ 4,50 parcialmente superpuesto con H-3 (τ 4,25), y que el hidroxilo anomérico se superpone totalmente con H-1a H-1b, dando un singulete de área correspondiente a tres protones. Los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamiento se resumen en la Tabla IV.

La identidad de esta sustancia con la aislada por Paulsen et al.⁴¹ se confirmó por metilación con ioduro de metilo-óxido de plata obteniéndose un compuesto cuyas constantes físicas y espectro de resonancia magnética nuclear en Cl_3CD a 60 MHz (Figura 3) (Tabla IV) coinciden con los descriptos por Paulsen y colaboradores⁴¹ para el metil 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranosido (36).



36

El producto principal de esta reacción de benzoilación fue la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (262). Su espectro de resonancia magnética nuclear (Figura 4) (Tabla IV), en piridina- d_5 muestra un doblete correspondiente a H-3 a τ 3,65 ($J_{3,4}$ 10 Hz). Si el hidroxilo del C-3 no estuviera benzoilado H-3 debería aparecer como un par de dobletes. H-5 aparece a τ 4,05 como un multiplete, el

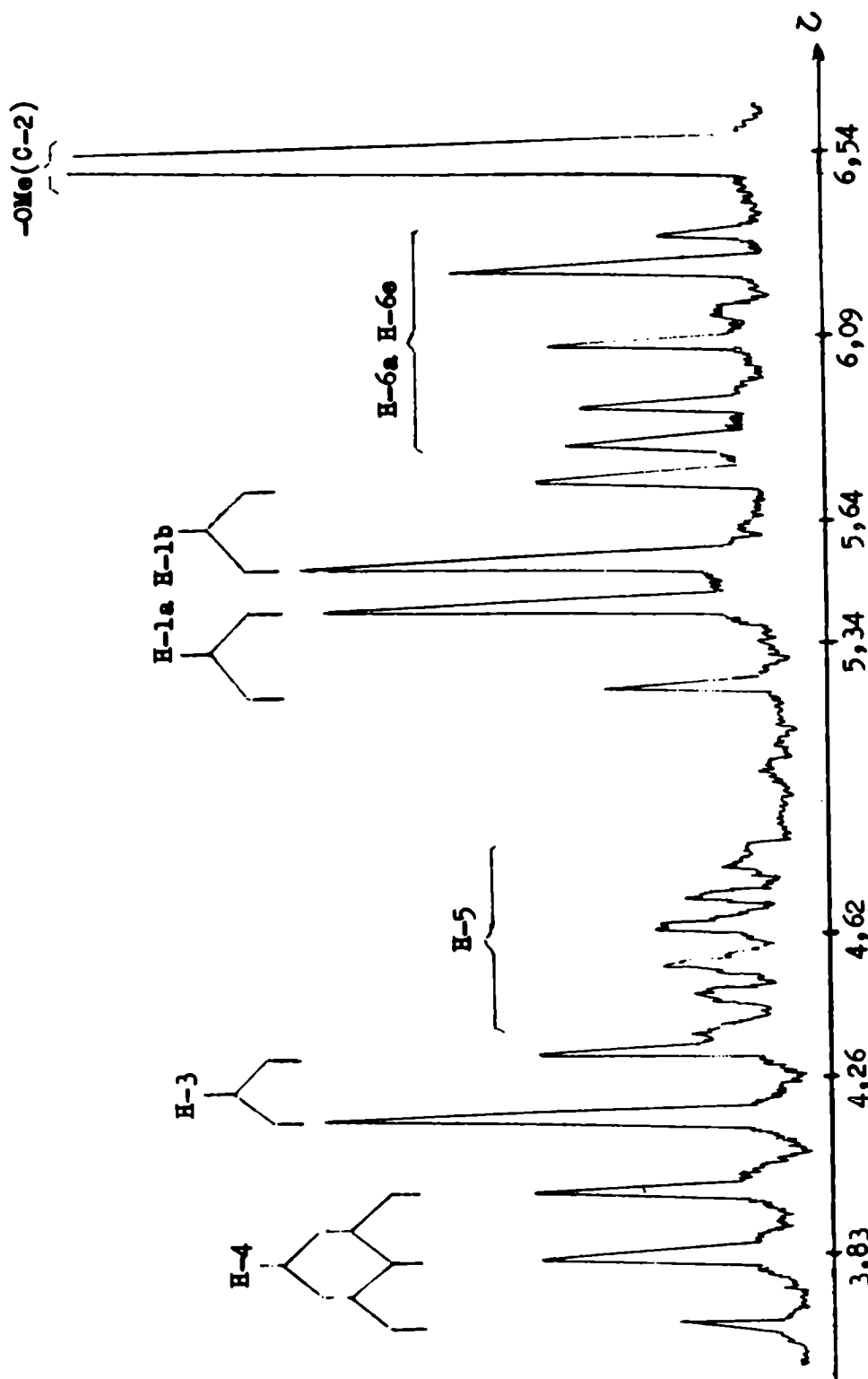
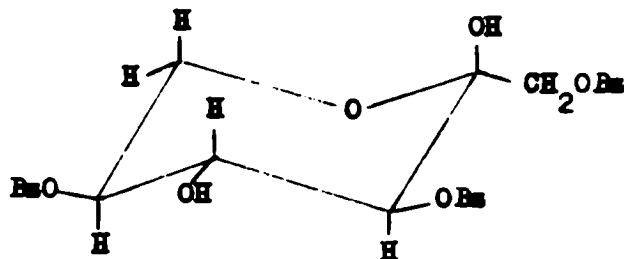


Figura 1 Espectro de R.M.N. del metil 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranosido (36); en Cl_3CD .

cual no se afecta por agregado de D_2O , lo que indica que el hidroxilo en C-5 está benzoilado.

A τ 4,74 se observa un multiplete complejo el cual por agregado de D_2O , se simplifica dando un triplete de $J_{3,4}$ y $J_{4,5}$ 10 Hz (Figura 4). Ello indica que el hidroxilo del C-4 está libre, de lo contrario, el agregado D_2O no hubiera tenido ningún efecto.

Las constantes de acoplamiento elevadas ($J_{3,4}$ y $J_{4,5}$ 10 Hz) indican una disposición trans-diaxial de los protones H-3, H-4 y H-5 lo cual está de acuerdo con la conformación 1C (L) (263) que postulamos para esta sustancia, ya que acoplamientos vecinales diecuatoriales darían constantes de acoplamiento en el rango de 2 a 4 Hz. La preferencia por esta conformación se comprende considerando que en ella todos los grupos benzilo se ordenan en forma ecuatorial.



263

H-1a, H-1b aparecen como un doblete a τ 5,02, lo que indica que el hidroxilo del C-1 está benzoilado, pues de lo contrario H-1a y H-1b se hubieran observado como un multiplete. Finalmente H-6a y H-6b aparecen como un multiplete a τ 5,50.

Todos estos datos indican que los hidroxilos de los C-4 y C-2 están libres, pues el resto de los protones se encuentra en carbonos

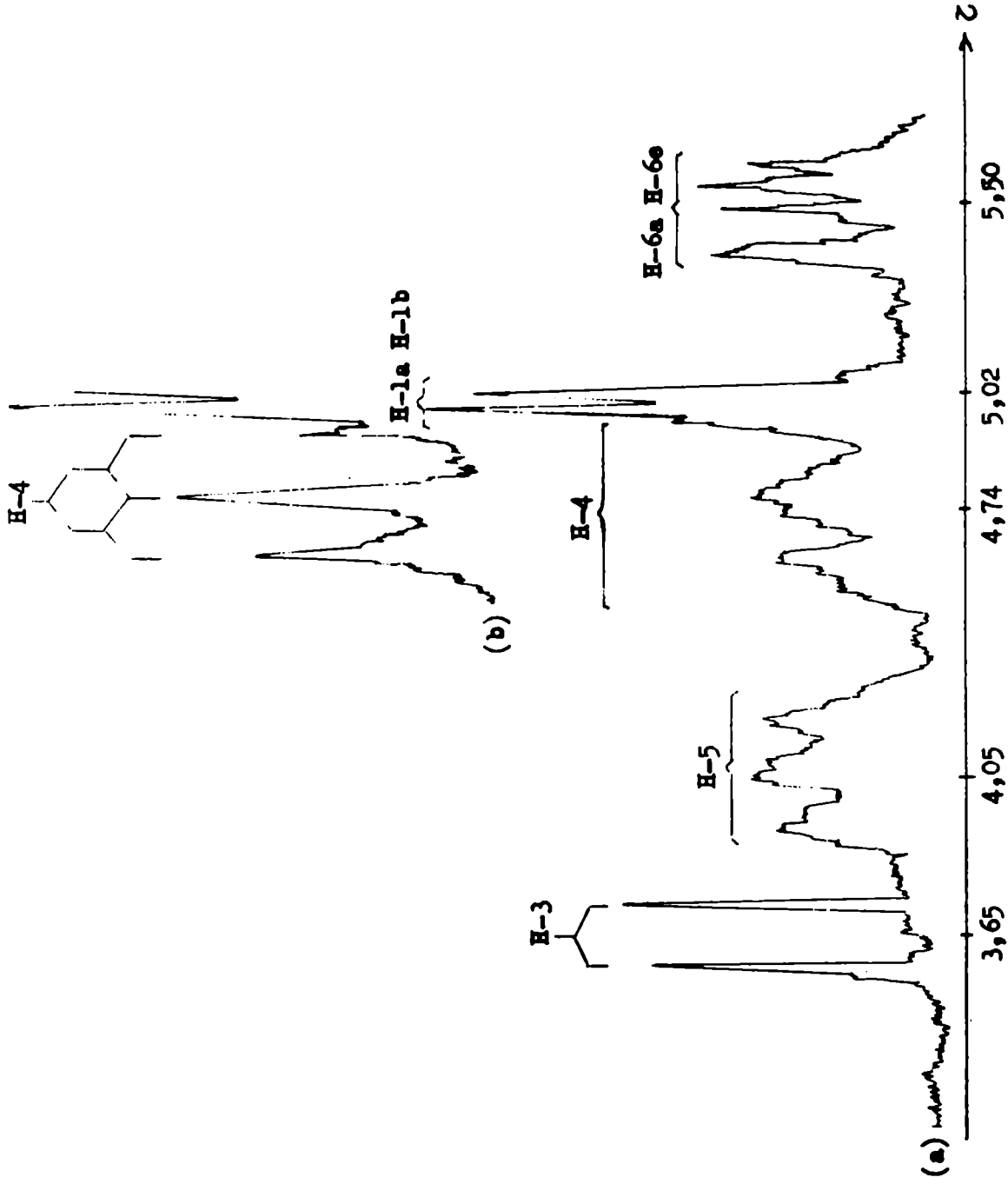


Figura 4- Espectro de R.M.H. de la 1,3,5-tri-O-benzoyl- α -L-scorpipiranos (262) ;

(a) en piridina- d_5 ; (b) en piridina- d_5 con D_2O

benzoilados como lo demuestra su partición.

La configuración alfa de este benzoato se demostró por su transformación, a través de unabenzoilación, en la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (35), cuya configuración anomérica fue ya establecida⁴¹. La configuración alfa preferida puede ser explicada considerando que el C-1 voluminoso en orientación ecuatorial [en la conformación 1C (L)] presenta menor impedimento estérico comparado con un C-1 axial si la configuración fuera beta. Este factor estérico operaría en el estado de transición que conduce al compuesto 262.

Estos datos se sustentaron por vía química, sometiendo este tribenzoato (262) a una metilación con diasometano en diclorometano²²² (ver esquema XL). Se obtuvo así la 1,3,5-tri-O-benzoil-4-O-metil- α -L-sorbopiranososa (264); la cual se desbenzoiló con metóxido de sodio en metanol obteniéndose un monometilderivado cuyas constantes físicas coinciden con las descritas por Bosshard y Reichstein²²³ para la 4-O-metil-L-sorbosa (265). Esto establece que uno de los hidroxilos libres en el compuesto es el del C-4.

El espectro de resonancia magnética nuclear (Figura 5) en piridina- d_5 a 60 MHz de este tribenzoato monometilado (264) muestra un doblete correspondiente a H-3 a τ 3,90 y $J_{3,4}$ 9,5 Hz.

H-4 aparece como un triplete a τ 5,39 ($J_{3,4}$ y $J_{4,5}$ 9,5 Hz). Por irradiación de H-3, se produce desaparición del acoplamiento entre H-3 y H-4 y este triplete se simplifica a un doblete originado por la interacción H-4 - H-5. La aparición de H-4 a más alto campo que en la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa se debería al mayor apantallamiento del metilo unido al hidroxilo del C-4.

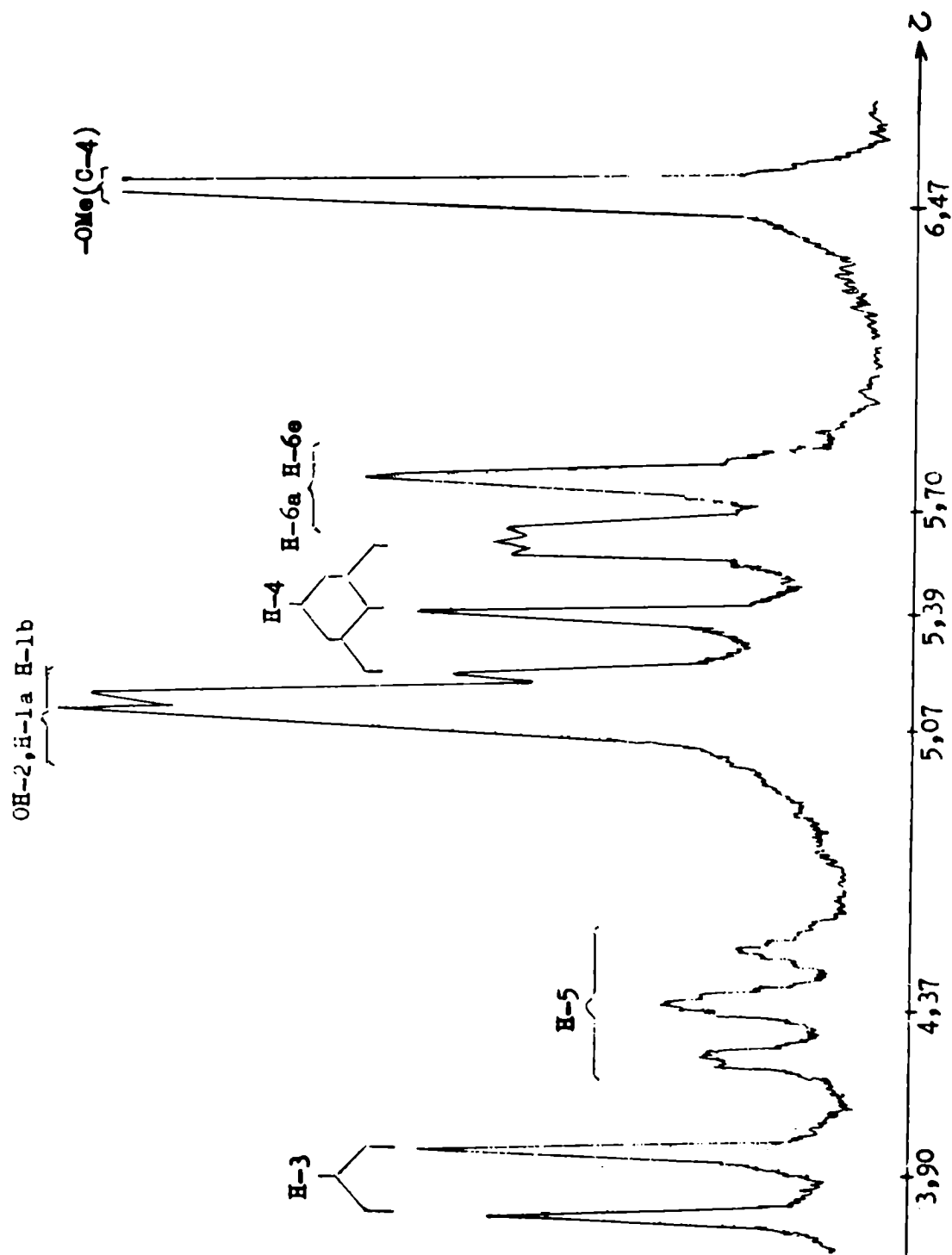
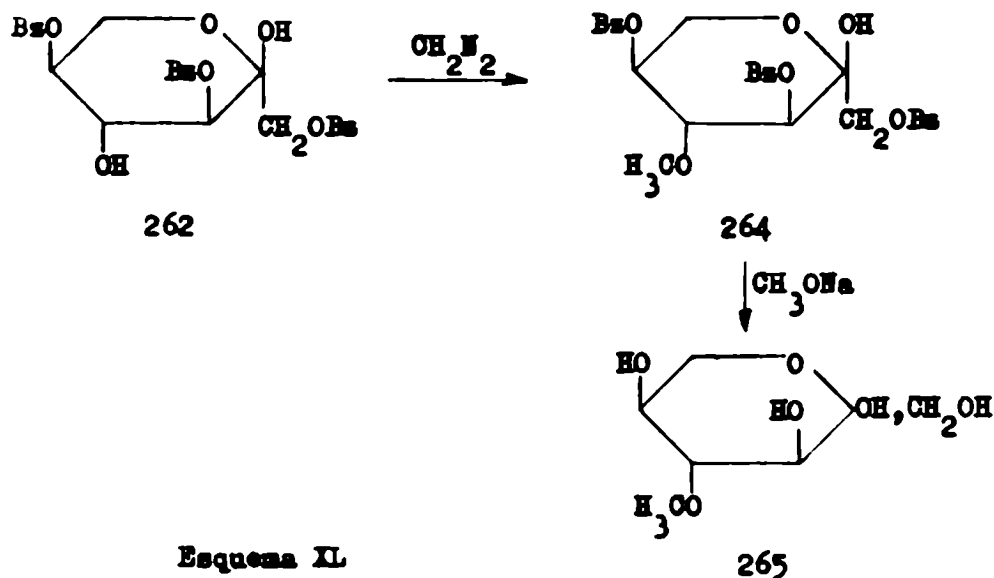
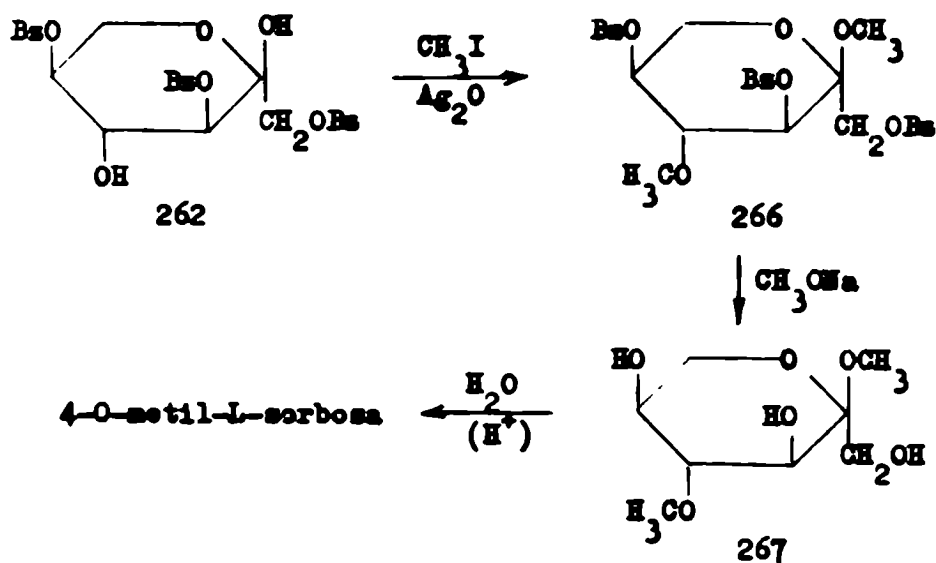


Figura 5- Espectro de R.M.N. de la 1,3,5-tri-O-benzoil-4-O-metil- α -L-sorbofuranosa (264); en piridina-d₅.



El alto valor de las constantes de acoplamiento, del orden de los 9,5 Hz, indica que H-3, H-4 y H-5 son trans-diaxiales y por consiguiente la molécula tiene una conformación 1C (L). El hidroxilo del C-2 se superpone con H-1a H-1b dando un doblete de área correspondiente a tres protones. La adición de D₂O disminuye el valor del área a dos protones. H-5 aparece como un multiplete complejo centrado en τ 4,37. H-6a H-6e se observan a τ 5,70 y los tres protones del metoxilo del C-4 dan un singulete bien definido a τ 6,47 (Tabla IV).

Se sometió la 1,3,5-tri-O-benzoyl- α -L-sorbopiranososa (262) a una metilación con ioduro de metilo-óxido de plata y se obtuvo el metil 1,3,5-tri-O-benzoyl-4-O-metil- α -L-sorbopiranosido (266). Esta sustancia se desbenzoiló con metóxido de sodio en metanol obteniéndose el metil 4-O-metil-sorbopiranosido (267) que por hidrólisis en medio ácido dió la 4-O-metil-L-sorbosa²²³ (ver esquema XLI). La facilidad con que se produce esta hidrólisis establece que el segundo hidroxilo libre en el compuesto es el del C-2.



Esquema XLI

El espectro de resonancia magnética nuclear (Figura 6) en Cl_3CD a 60 MMs de 266, muestra a H-3 como un nítido doblete a τ 4,47 ($J_{3,4}$ 9,5 Hz).

El valor alto de la constante de acoplamiento indica una posición trans-diaxial de los protones y la existencia de una conformación 1C_4 (L). H-4 aparece superpuesto con H-6a, H-6e en la zona comprendida entre τ 5,75 y τ 6,33.

H-1a, H-1b se observan como un doblete a τ 5,55 y H-5 aparece como un multiplete centrado en τ 4,74. Finalmente los dos metoxilos unidos a los C-2 y C-4 aparecen muy próximos a τ 6,58 y τ 6,60 (Tabla IV).

Síntesis de penta y hexabencatos de L-sorbose

Cuando se benziló la L-sorbose en piridina a temperatura ambiente, refluendo a 100° después de sesenta horas de estacionamiento, se obtuvo un jarabe que cristalizó de etanol. Este sólido se sometió a cristalizaciones fraccionadas con tetracloruro de carbono y así se

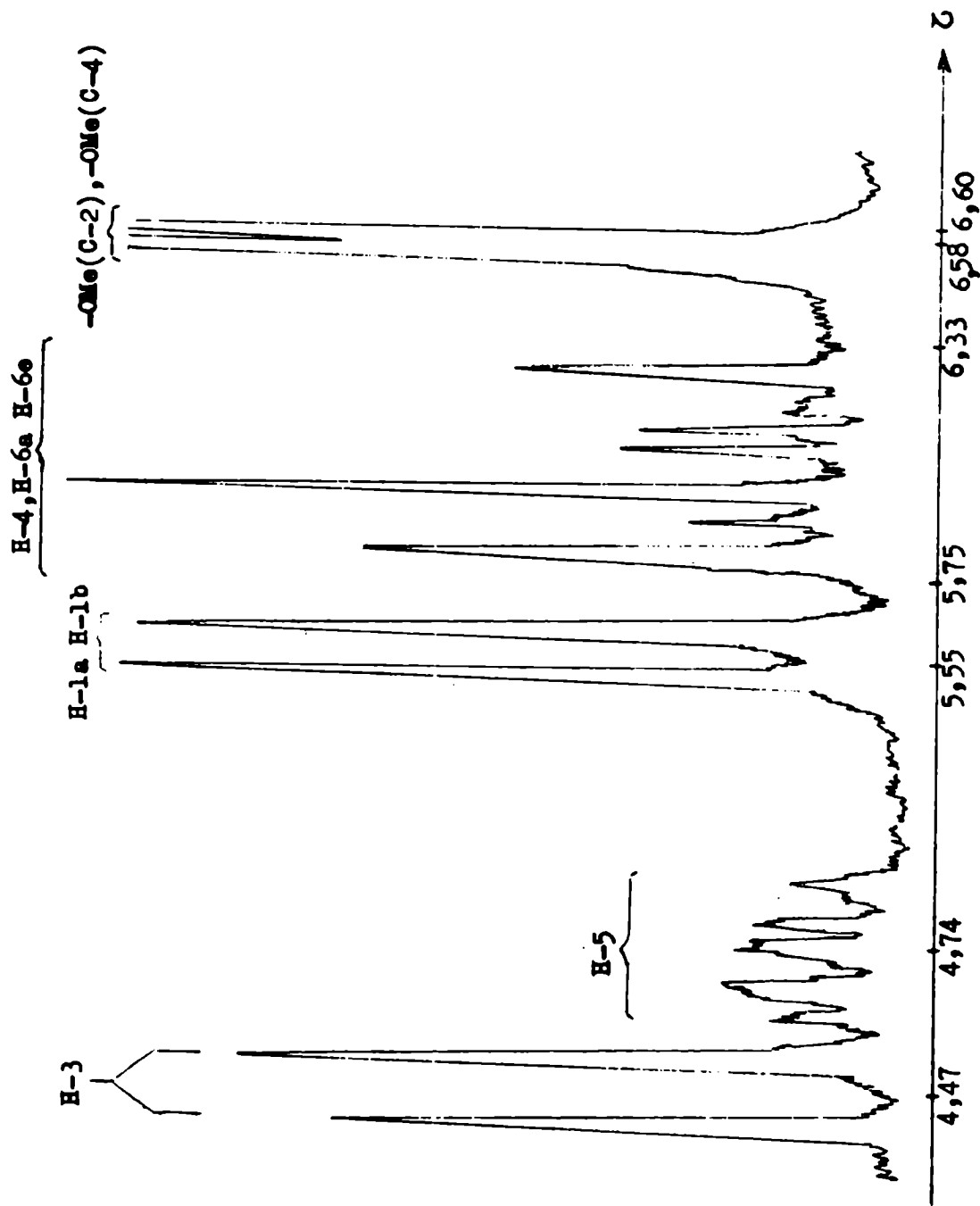


Figura 6 - Espectro de R.M.N. del metil 1,3,5-tri-O-benzoil-4-O-metil- α -L-sorbopiranosido (266); en Cl_3CD .

Tabla IV

Desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento de los compuestos 35, 36, 262, 264, 266.

Compuesto	Solvente	Desplazamientos químicos (τ) y constantes de acoplamientos (Hz)					
		H-1a	H-1b	H-3	H-4	H-5	H-6a H-6e CH ₃
35	Cl ₃ CD	5,43		4,25 (J _{3,4} 10)	3,66 (J _{4,5} 10)	4,50	5,82
36	Cl ₃ CD	5,34 5,64 (J _{H-1a H-1b} 12)		4,26 (J _{3,4} 10)	3,83 (J _{4,5} 10)	4,62	6,09 6,54
262	piridina-d ₅	5,02		3,65 (J _{3,4} 10)	4,74 (J _{4,5} 10)	4,05	5,50
264	piridina-d ₅	5,07		3,90 (J _{3,4} 9,5)	5,39 (J _{4,5} 9,5)	4,37	5,70 6,47
266	Cl ₃ CD	5,55		4,47 (J _{3,4} 9,5)	5,75-6,33	4,74	5,75-6,33 6,58 6,60

obtuvo un hexabenoato I (1,75%), de p.f. 167°, $[\alpha]_D + 46,5^\circ$ y un hexabenoato II (10,11%) de p.f. 136°, $[\alpha]_D - 43,1^\circ$, que difería del anterior por su gran solubilidad en éter etílico, lo que permitió purificarlo totalmente.

No hemos determinado todavía la estructura de estos benzoatos, aunque no cabe duda que la L-sorbosa reaccionó, en las condiciones experimentales descritas, bajo una forma enólica, ya que ambos benzoatos son pasibles de ozonólisis y por desbenzoilación con metóxido de sodio no producen sorbosa sino productos que corren adelantados en cromatografía en papel. Dichas reacciones se llevaron a cabo en microescala y se encuentran en marcha estudios para aislar en forma preparativa los productos de las mismas.

De los alcoholes madres de los que precipitó la mezcla de los dos benzoatos anteriores se aisló un sólido amorfo (2,28 %) p.f. 64°, $[\alpha]_D - 58,5^\circ$ que dió un buen análisis para un pentabenoato. La desbenzoilación de esta sustancia con metóxido de sodio fue total, obteniéndose por cromatografía en papel sólo una mancha de sorbosa. El espectro de R.M.N. de esta sustancia (ver Figura 7) mostró un doblete correspondiente a H-3 cuya constante de acoplamiento de primer orden $J_{3,4}$ fue de 8 Hz indicando una relación trans-diaxial H-3 - H-4 en un anillo piranósico en conformación 1C_4 (L) (268). H-4 aparece como un triplete a $\tau 3,78$; $J_{3,4}$ y $J_{4,5}$ 8 Hz, parcialmente superpuesto con H-5 aunque ciferenciado. H-5 aparece como un multiplete centrado a $\tau 3,93$. A $\tau 4,84$ aparece un singulete de área correspondiente a dos protones atribuíble a H-1a y H-1b. Centrado en $\tau 5,20$ aparece un multiplete correspondiente a H-6a, H-6e.

Las constantes de acoplamiento de primer orden $J_{3,4}$ y $J_{4,5}$ 8 Hz

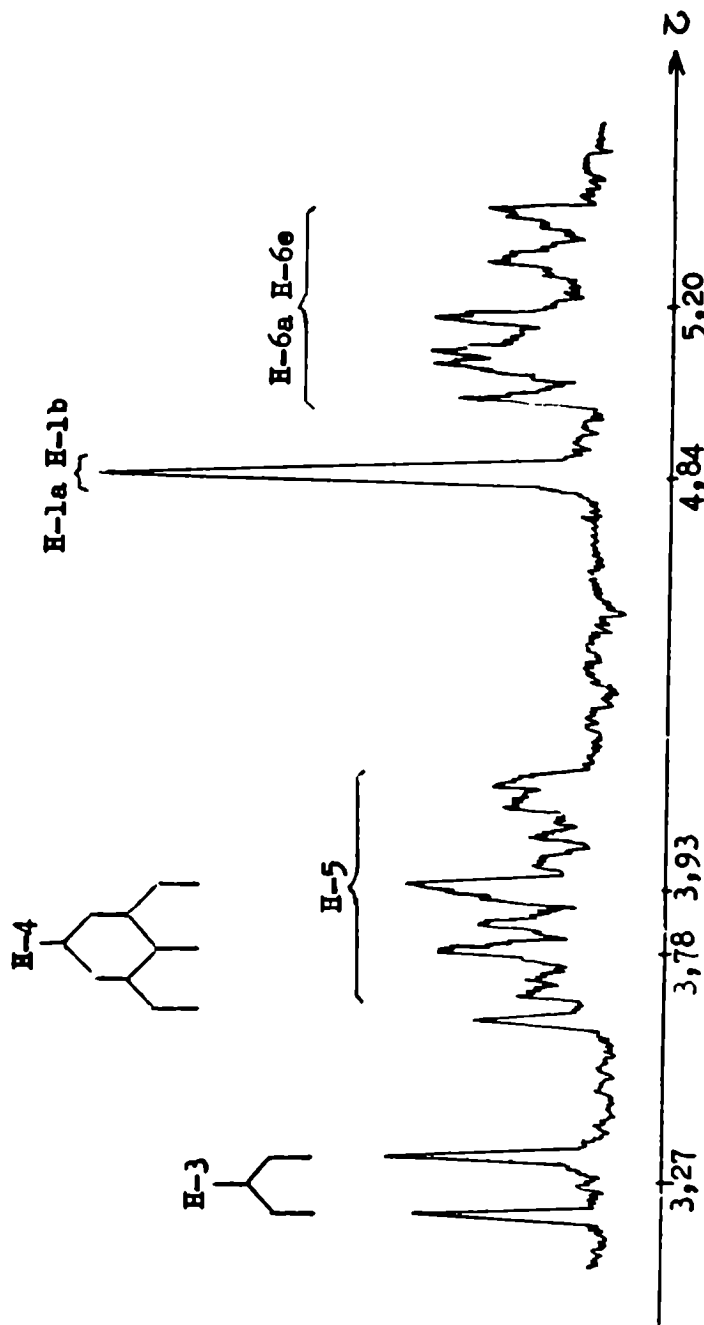
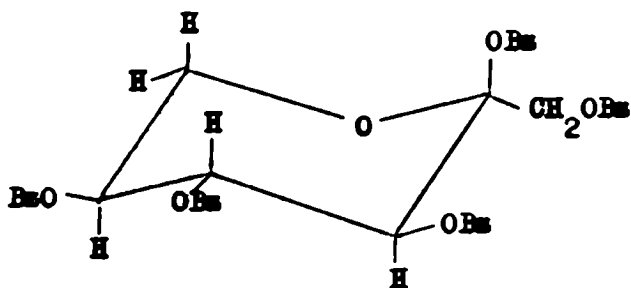


Figura 7.- Espectro de R.M.N. de la 1,2,3,4,5-penta-O-benzoil- α -L-sorbofuranosa (268); en CD_3Cl .

indican la existencia de una estructura piranósica en una conformación silla 1C (L) (268). La aparición de H-3 a bajo campo puede atribuirse a la existencia de un grupo benzoiloxi en posición trans-axial en C-2, que ejerce un efecto desapantallante²²⁴. Se considera que este benzoato posee la configuración α -L en base a su bajo poder rotatorio. Dicha configuración estaría favorecida ya que el voluminoso sustituyente en C-2 en orientación ecuatorial presenta menor impedimento estérico que dicho grupo en posición beta axial.



Amonolisis de acil derivados de cetosas.

La reacción de aldosas y aldobiosas con amoníaco ha sido extensamente investigada²²⁵ mostrando que entre los mecanismos competitivos que intervienen se encuentra la migración intramolecular O → N de grupos acilo dando N-acil glicosilaminas y 1-desoxi-1,1-bis-(acilamido) alditoles cristalinos. Las desacilaciones y las transesterificaciones, que producen cantidades variables de azúcar libre, son reacciones concurrentes. A partir de acetatos o benzoatos de aldosas no se observaron cantidades significativas de sustancias básicas o poliméricas.

Los ésteres acilados de cetosas reaccionaron con amoníaco según un camino completamente diferente, siendo los productos principales de la reacción compuestos heterocíclicos nitrogenados y melanoidinas junto con sustancias que provendrían de transformaciones importantes de la molécula de la cetohexosa. Este comportamiento no puede ser considerado exclusivo de las cetosas aciladas, debido a que las cetosas libres dan sustancias análogas. Sin embargo el grupo acilo ejerce una influencia decisiva sobre la velocidad de reacción y el rendimiento de los productos.

A continuación se describen las reacciones de 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-L-sorbosa (29) y 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-D-fructosa (4) con amoníaco acuoso y la reacción de 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (262) y de 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- β -D-fructopiranososa (15) con amoníaco alcohólico (isopropanol, metanol).

Las variaciones en la concentración de amoníaco y en la elección del solvente, que se indican a continuación, se efectuaron a fin de simplificar el esquema de reacción. En vista del comportamiento obser-

vado por los ésteres antes mencionados, se hizo necesario verificar de que manera reaccionaban la L-sorbosa y la D-fructosa con el amoniaco a fin de comparar los resultados.

Amonolisis de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-L-sorbosa.

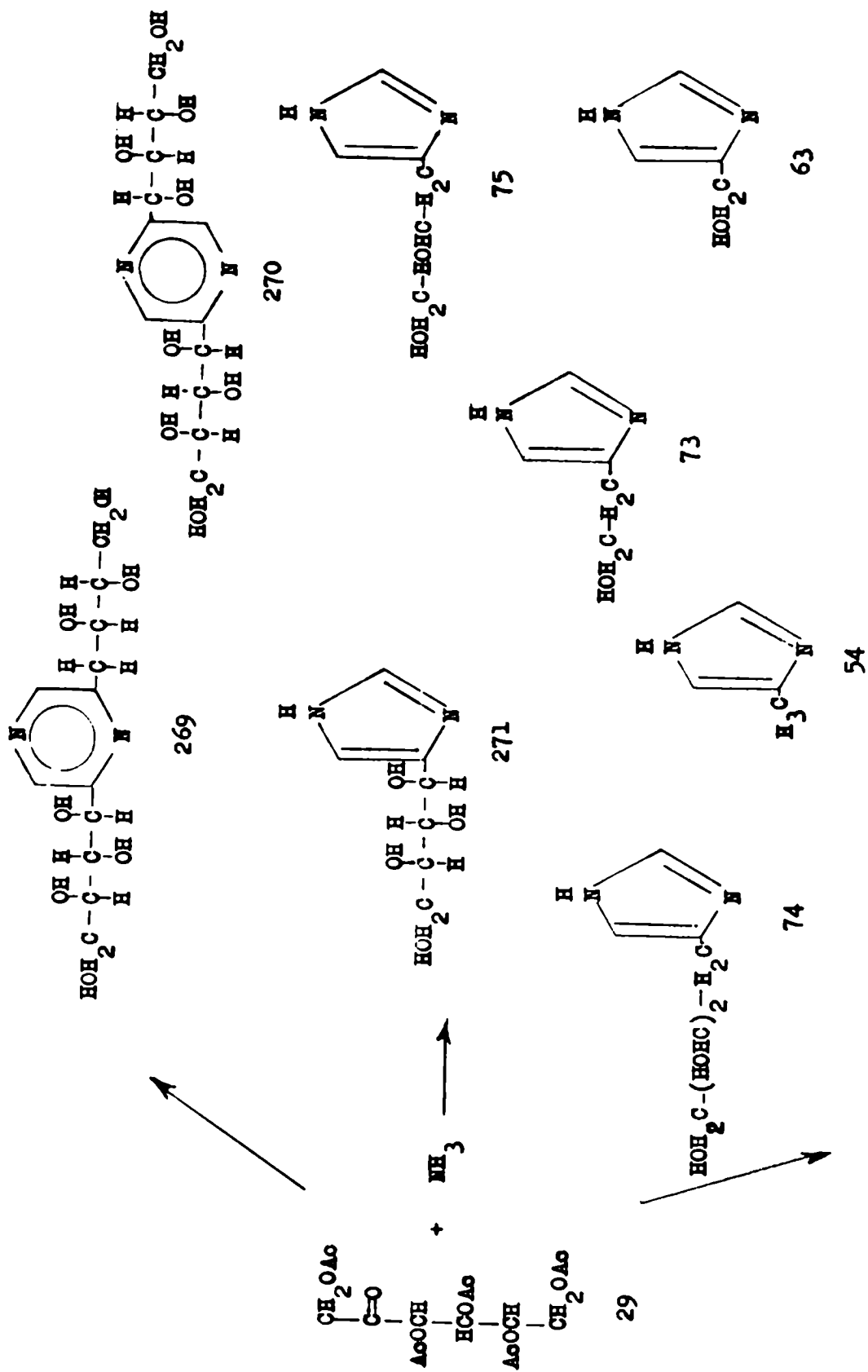
Se estudió la reacción de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-L-sorbosa (29) con amoniaco acuoso al 24% con el objetivo de aislar productos de migración, es decir N-acetil-L-sorbo-silaminas y el hipotético 2-lesoxi-2,2-bis-(acetamido)-L-iditol.

Sin embargo, los productos de la reacción fueron mezclas que, por cromatografía en papel, indicaron un proceso complejo de transformaciones con la formación de por lo menos veinte productos diferentes.

Se intentó separar estos productos en columnas de celulosa y de resinas de intercambio iónico y mediante cromatografías preparativas en papel, pero exceptuando el aislamiento de piracinas y la identificación de compuestos imidazólicos, esos jarabes complejos no pudieron ser resueltos. Dejando estos jarabes varios días a temperatura ambiente mostraron mayor insolubilidad en metanol con aumento en la formación de melanoidinas, lo cual sugiere la presencia de sustancias reactivas que se polimerizan, o bien un incremento en el estado de agregación de los polímeros primitivamente formados.

La reacción de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-L-sorbosa (29) con amoniaco acuoso al 24% dió 2-(L-xilo-tetrahidroxibutil)-6-(L-treo-2,3,4-trihidroxibutil)piracina (269) con un rendimiento del 11% y 2,5-bis-(L-xilo-tetrahidroxibutil)piracina (270) con bajo rendimiento (0,40%) (ver esquema XLII).

Empleando resinas de intercambio iónico, los compuestos imidazólicos fueron separados de la masa del jarabe e identificados por cromatografía en



MELANOIDINAS

Esquema XLII

papel como 4(5)-(L-xilo-tetrahydroxibutil)imidazol (271); 4(5)-(2,3,4-trihydroxibutil)imidazol (74); 4(5)-(2,3-dihydroxipropil)imidazol (75); 4(5)-(2-hidroxiétil)imidazol (73); 4(5)-hidroximetilimidazol (63) y 4(5)-metilimidazol (54).

El rendimiento de melancoidinas fue expresado sobre la base del azúcar libre (L-sorbose) involucrado en la reacción. Así en la amonólisis del acetato 29 se obtuvo un 20% de sustancias poliméricas; este valor es aproximado ya que estos productos están presentes en diferentes estados de polimerización, variando de acuerdo con ello su solubilidad en metanol. La presencia de estas melancoidinas solubles hace dificultoso el aislamiento de fragmentos de menor peso molecular.

Las melancoidinas fueron purificadas por repetidas precipitaciones de agua, con metanol. Se obtuvo un precipitado marrón insoluble en metanol sobre el cual se hicieron estudios preliminares tal como se indica en la pag. 175.

La presencia del anillo de piracina en la 2-(L-xilo-tetrahydroxibutil)-6-(L-treo-2,3,4-trihydroxibutil)piracina (269) fue demostrada por la absorción U.V. característica de piracinas ¹¹⁴ $\lambda_{\text{máx}}$ 267nm (ver Figura 8), correspondiente a una transición $\pi \rightarrow \pi^*$ en las piracinas ²²⁶ y por su análisis. El carácter no reductor y la resistencia del producto a la hidrólisis sugirió una condensación en presencia de amoníaco de dos moléculas de L-sorbose.

La posición de los sustituyentes sobre el anillo de piracina fue determinada por oxidación de 269 con agua oxigenada en medio alcalino obteniéndose el ácido 2,6-piracindicarboxílico (272) previamente descrito, que fue identificado por cromatografía en papel ^{227,228}

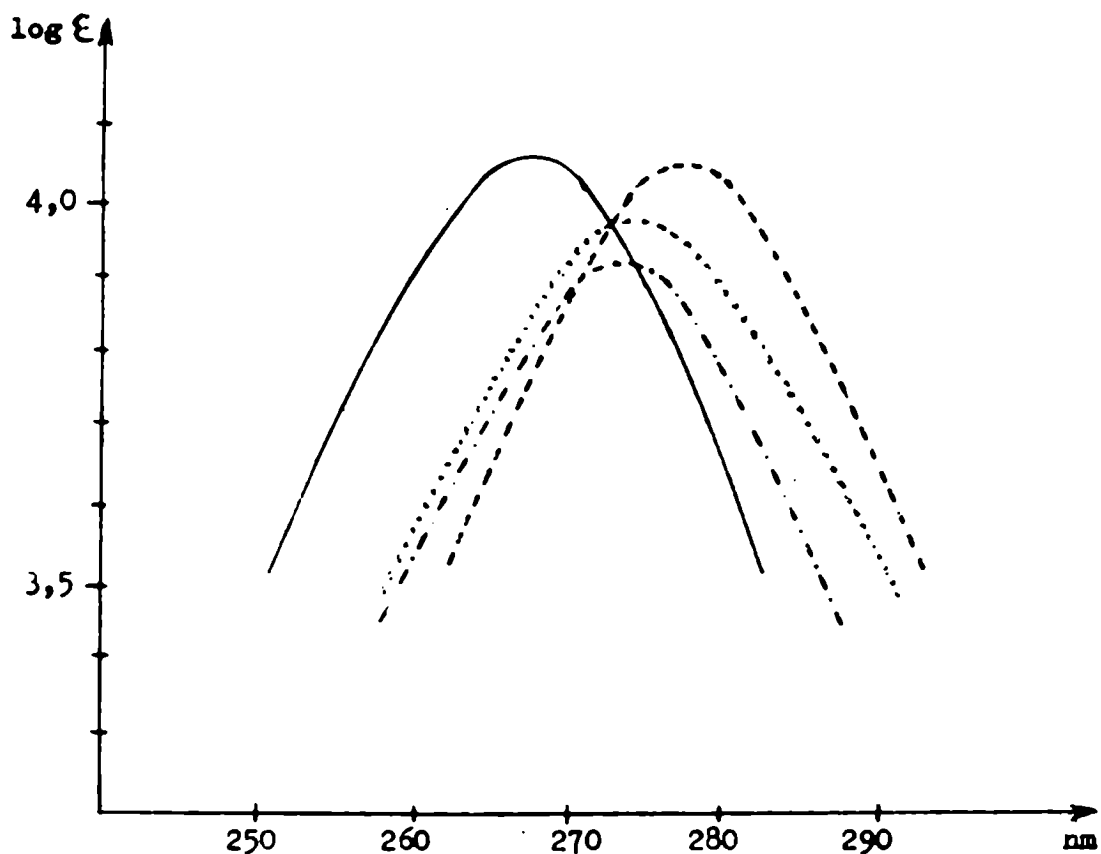


Figura 8 Espectros de absorción en el U.V.

- : 2-(L-xilo-tetrahydroxibutil)-6-(L-treo-2,3,4-trihydroxibutil)piracina.
- - - : ácido 2,6-piracindioarboxílico
- : 2-(L-xilo-tetraacetoxibutil)-6-(L-treo-2,3,4-triacetoxibutil)piracina
- · - · - : 2,5-bis-(L-xilo-tetrahydroxibutil)piracina

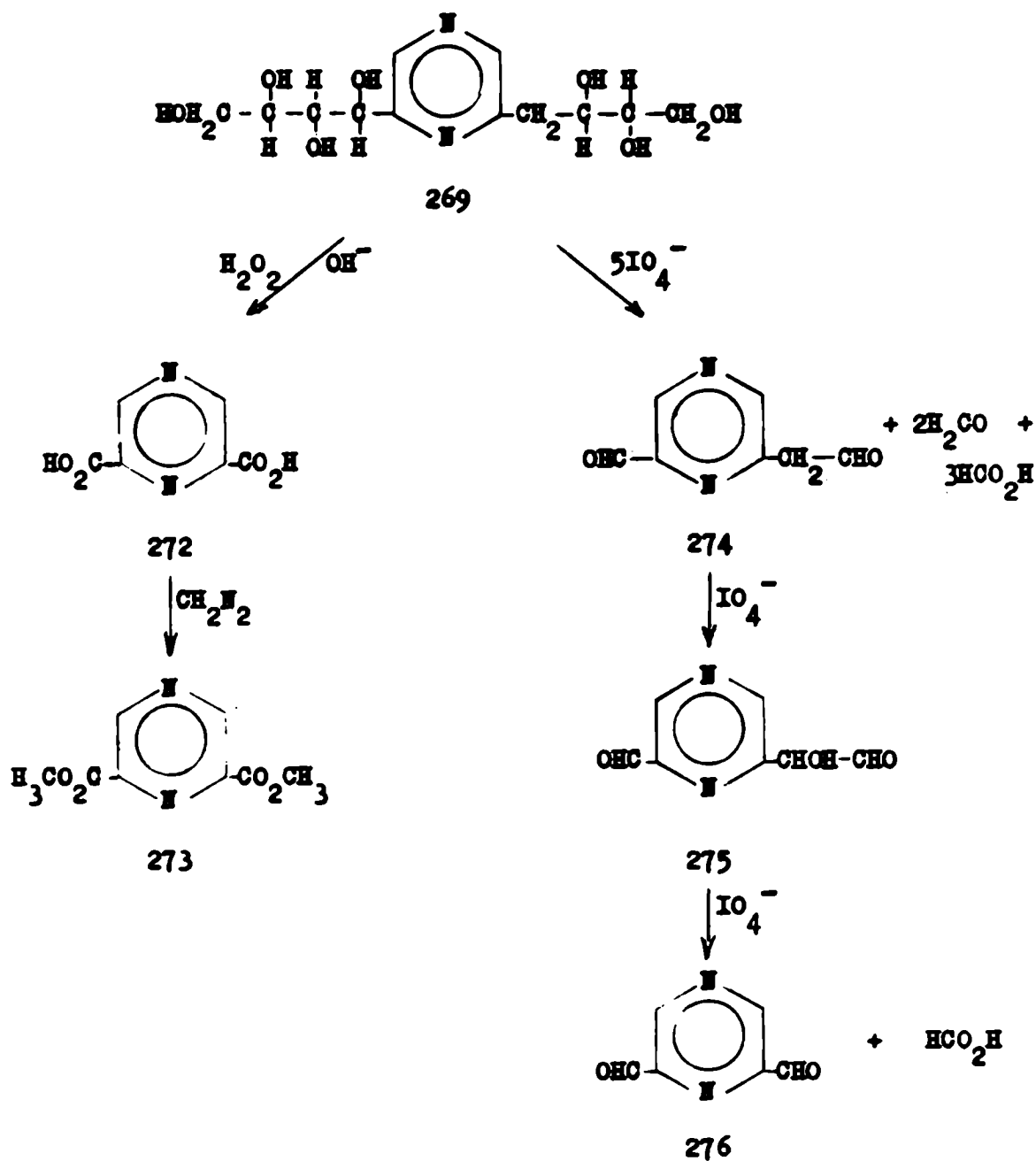
y por preparación de su dimetil éster (273)¹¹⁷ (ver esquema XLIII). Además el compuesto 272 presentó en el U.V. la banda de absorción característica de las pirabinas (λ_{max} 277,5 nm) (ver Figura 8).

El espectro de R.M.N. de 269 en óxido de deuterio está de acuerdo con el de su isómero la "desoxi-D-fructosacina" (pág. 171) cuya estructura fue demostrada por Kuhn y colaboradores¹¹¹. Los protones aromáticos resonaron a τ 1,36 y τ 1,47, el metileno C-1" (τ 6,86) y H-1' (τ 4,94) fueron bien separados del resto de los protones (multiplete entre τ 5,84 y τ 6,46) (ver Figura 9).

Los espectros U.V. y R.M.N. del heptaacetato de 269 (ver Figuras 8 y 10) confirmaron estos resultados, y están de acuerdo con los datos publicados para los protones correspondientes del acetato de "D-fructosacina"¹¹⁴ y 2-(tetraacetoxibutil) quinoxalina²²⁹, con la excepción del doblete del metileno del C-1" (τ 6,87).

La ubicación de los grupos hidroxilo y metileno fue determinada por oxidación de 269 con periodato de sodio. Un consumo inicial de cinco moles de periodato con producción de tres moles de ácido fórmico y dos moles de formaldehído indicó la presencia de dos grupos hidroxilo primarios y dos grupos hidroxilo secundarios en una cadena lateral y tres secundarios en la otra. El subsiguiente consumo de dos moles más de periodato y la producción de un mol de ácido fórmico puede ser interpretado por una hidroxilación del grupo metileno activado en el intermediario 274 dando el hidroxialdehído 275, cuya ruptura conduciría al dialdehído 276 (ver esquema XLIII).

La formación de 269 se explicaría sobre la base de que la L-sorbosa (23), liberada por la amonólisis de los restos benzilo, en medio amoniacal estaría en equilibrio con L-idosa (277) y L-gulosa (278) a través de una transformación de Lobry de Bruyn - Alberda van Ekens-



Esquema XLIII

H-2', H-2'', H-3', H-3'',
metileno C-4', C-4''

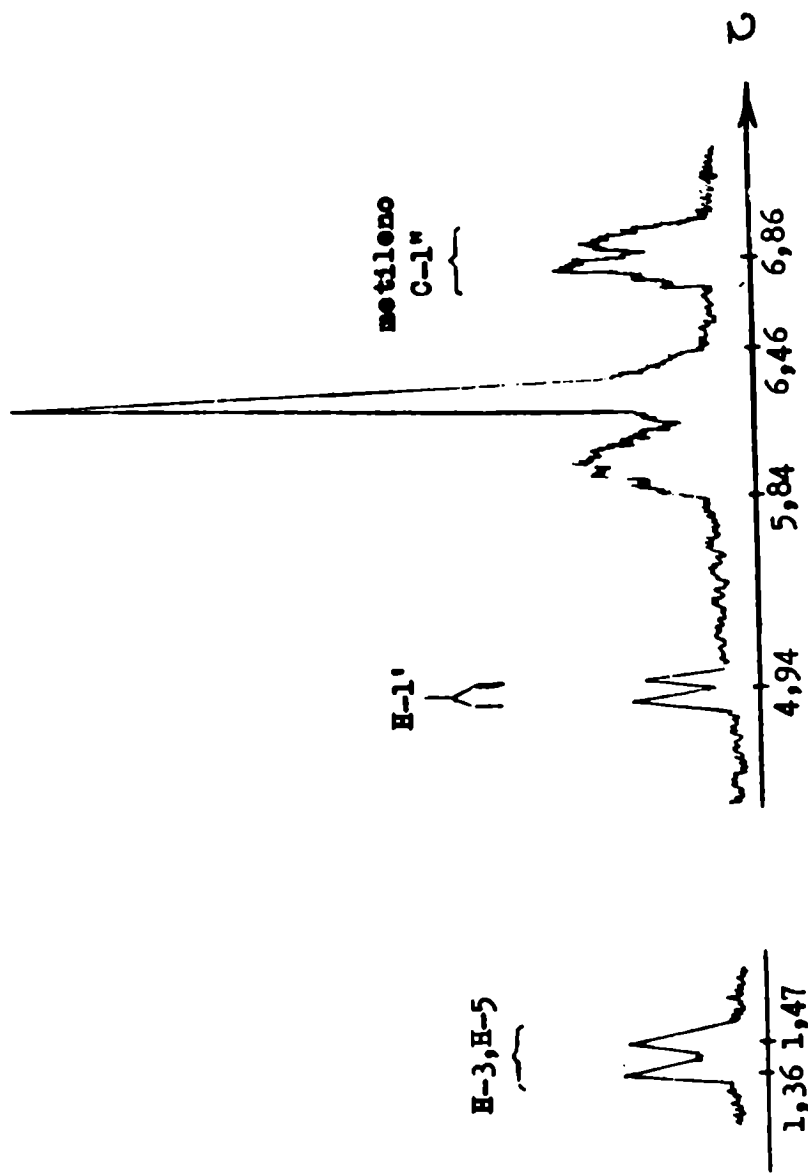


Figura 9 - Espectro de R.M.N. de la 2-(L-xilo-tetrahidrobutil)-6-(L-treo-2,3,4-trihidrobutil)piracina (269), en D₂O

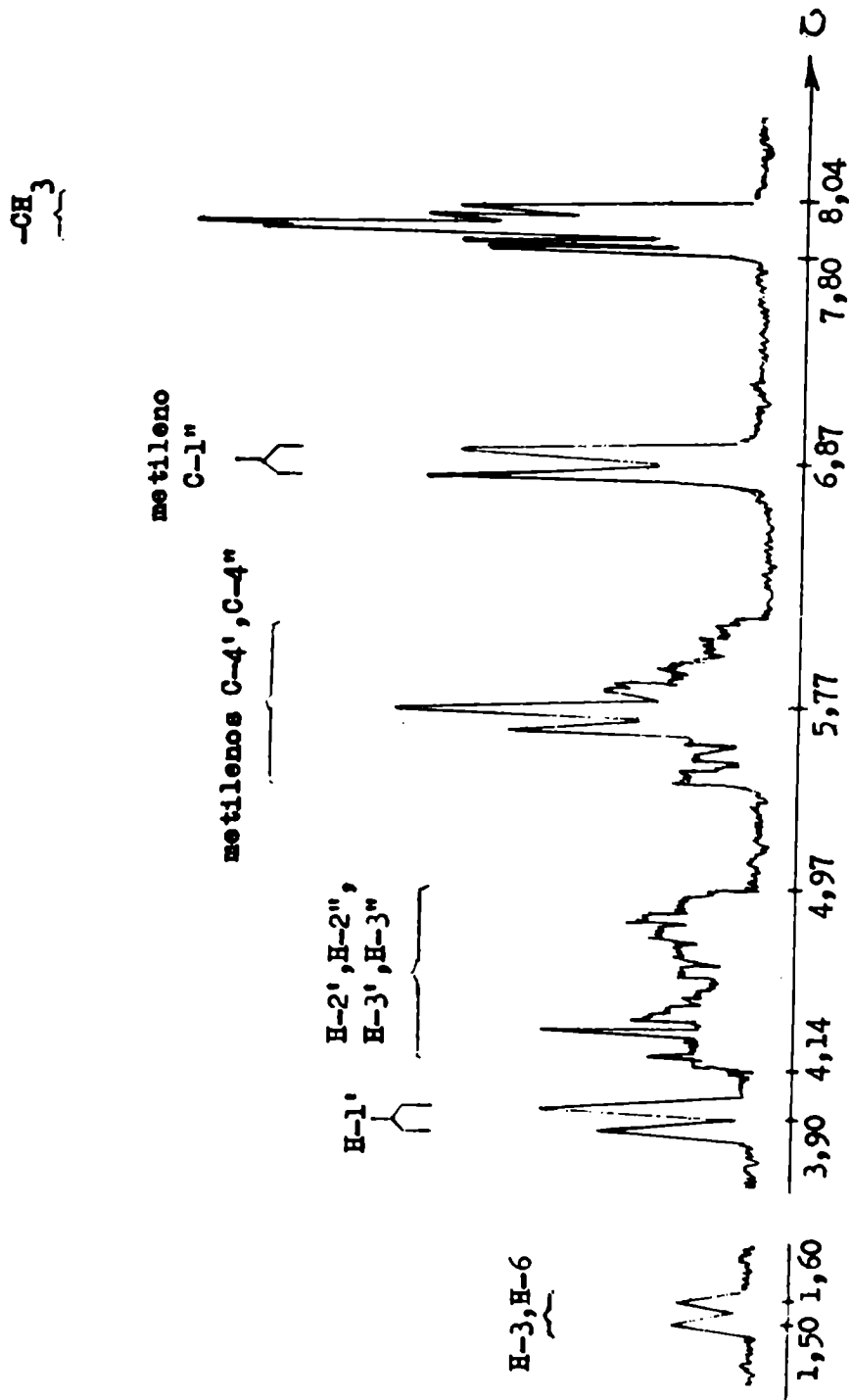


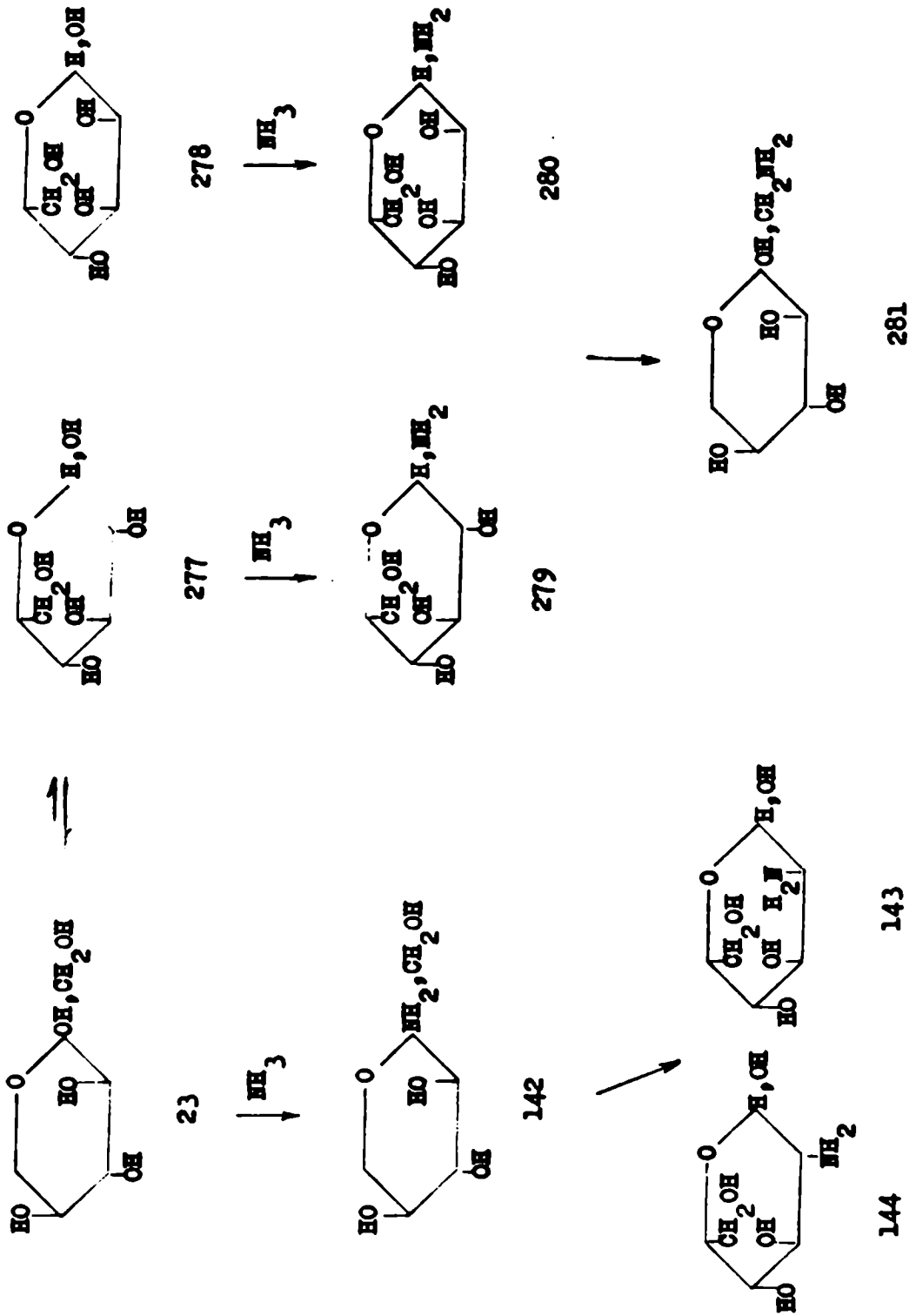
Figura 10 - Espectro de R.M.N. de la 2-(L-tillo-tetraacetobutyl)-6-(L-treo-2,3,4-triacetobutyl)piracina, en Cl₃CD

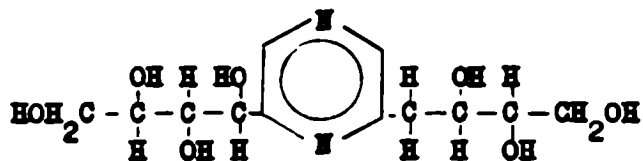
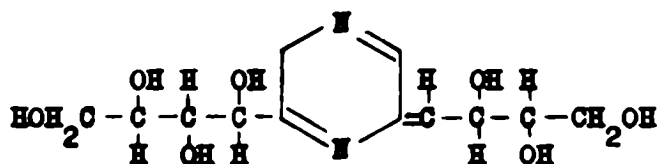
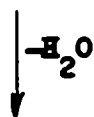
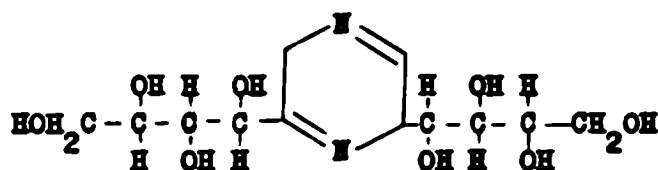
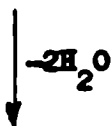
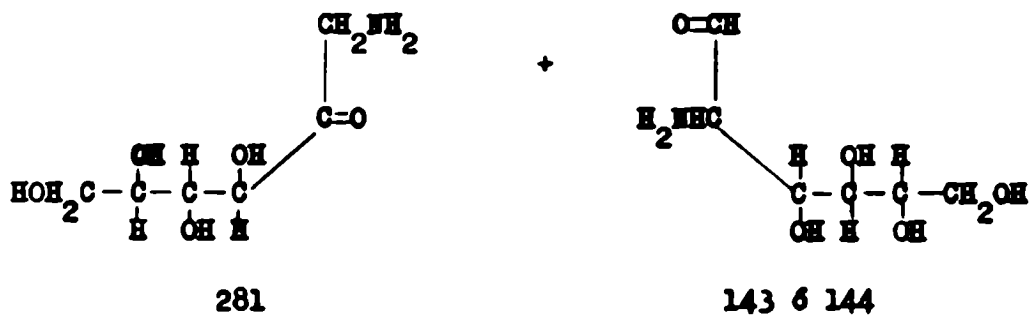
tein. La L-sorbose al reaccionar con amoníaco formaría la L-sorbo-silamina (142), mientras que la L-idosa y la L-gulosa darían las correspondientes L-aldosilaminas (279 y 280). El compuesto 142 por una transposición de Heyns pasaría a L-idosamina (144) y L-gulosamina (143), mientras que una transposición de Amadori de 279 y 280 daría la l-desoxi-l-amino-L-sorbose (281) (ver esquema XLIV).

La condensación de 143 ó 144 con 281 daría lugar a la formación de la 2-(L-xilo-tetrahidroxibutil)-6-(L-treo-2,3,4-trihidroxibutil)piracina (269) (ver esquema XLV).

En el primer paso de la condensación, la L-gulosamina (143) o la L-idosamina (144) con la l-desoxi-l-amino-L-sorbose (281) formaría la dihidropiracina correspondiente la cual se deshidrataría eliminando una molécula de agua por un mecanismo análogo a la crotonización del acetaldol, perdiendo un protón del carbono terciario del heterociclo y un hidroxilo de su carbono vecino de la cadena lateral. Finalmente el compuesto se estabilizaría por aromatización del heterociclo para dar origen a 269.

Junto con el compuesto 269 se aisló una pequeña cantidad de una segunda piracina ($\lambda_{\text{máx}}$ 273,8 nm, figura 8). Su estructura fue determinada por oxidación con agua oxigenada obteniéndose ácido 2,5-piracindicarboxílico (104). Considerando la configuración del azúcar original (L-sorbose) se pudo suponer la formación de la 2,5-bis-(L-xilo-tetrahidroxibutil)piracina (L-sorbosacina, 270), y esto fue confirmado por su espectro de R.M.N. que mostró resonancia en la zona de los protones aromáticos a τ 1,27; H-1' y H-1" resonaron a τ 4,94 y el resto de los protones (ocho) se presentaron como un multiplete entre τ 5,84 y τ 6,54. No se observaron protones me-





269

Esquema XLV

tilénicos sobre un átomo de carbono unido al ciclo aromático (ver figura 11).

La formación de este compuesto puede ser interpretada por un camino similar al propuesto para la fructosacina¹¹¹. Dos moléculas de 1-desoxi-1-amino-L-sorbose (281) formada como se describió anteriormente (ver esquema XLIV), darían por condensación la dihidropirracina 282 con dos grupos metileno en el anillo heterocíclico, el cual por acción del oxígeno atmosférico se deshidrogenaría dando la sorbosacina 270 (ver esquema XLVI).

La formación de imidasoles se explica a través de una serie de transformaciones y rupturas sufridas por el azúcar. El 4(5)-(L-xilotetrahidroxibutil)imidazol (271) se formaría vía la L-sorbose (283) [producida por la oxidación de la L-sorbose (23)], por condensación con formaldehído y amoníaco, como fue sugerido por estudios previos^{65, 69, 230} realizados con sustancias relacionadas. El formaldehído necesario para esta condensación provendría de una desaldolización de la L-sorbose que daría las correspondientes aldopentosa (84) y cetopentosa (85)^{56, 87}. Sin embargo ésta no sería la única fuente de formaldehído, ya que otros productos de ruptura de la L-sorbose, como el gliceraldehído (57), la dihidroxiacetona (66) o el aldehído pirúvico (55) podrían descomponerse dando formaldehído que proveería el C-2 del núcleo imidazólico^{56, 83, 86} (ver esquema XLVII). Por un reordenamiento de Lobry de Bruyn - Alberda van Ekenstein⁸⁸, la L-sorbose daría una mezcla de las dos aldosas epímeras la L-idosa (277) y la L-gulosa (278). La deshidratación de las hexosas conduciría a la 3-desoxiosona correspondiente (83)⁹³, la cual por condensación con formaldehído y amoníaco conduciría al 4(5)-(2,3,4-trihidroxibutil)imidazol (74).

H-2', H-2'', H-3', H-3'',
metileno C-4', C-4''

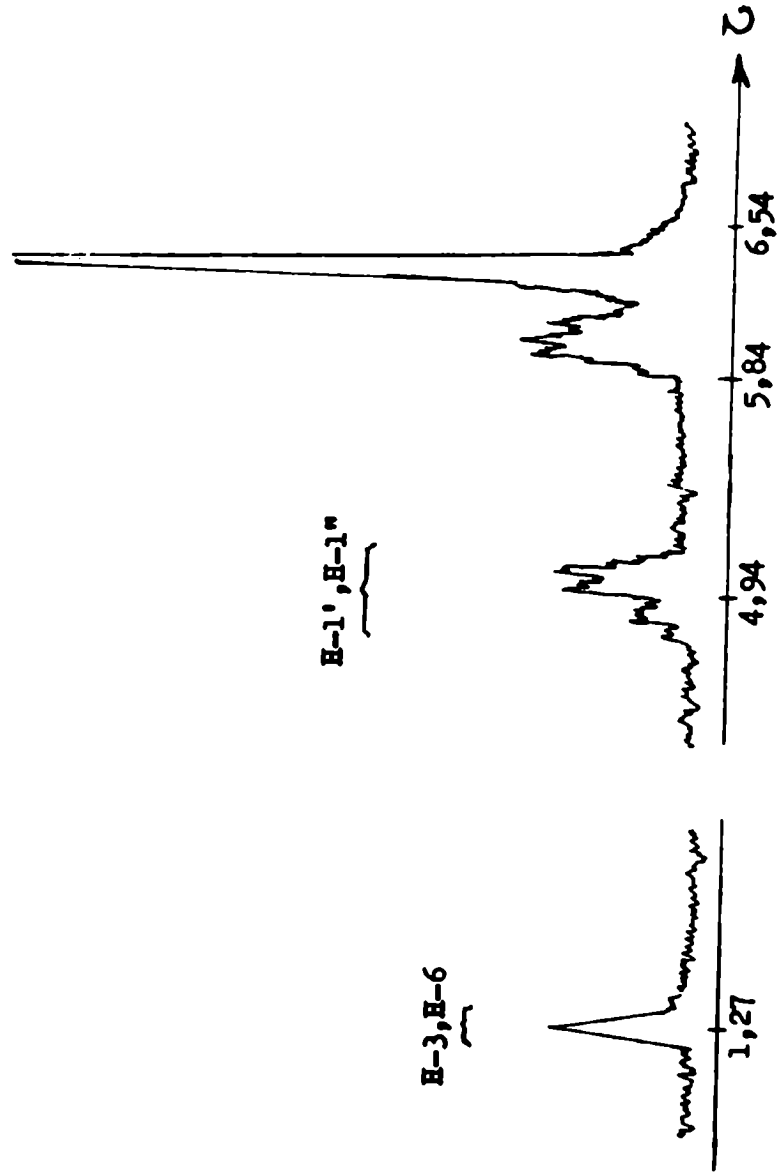
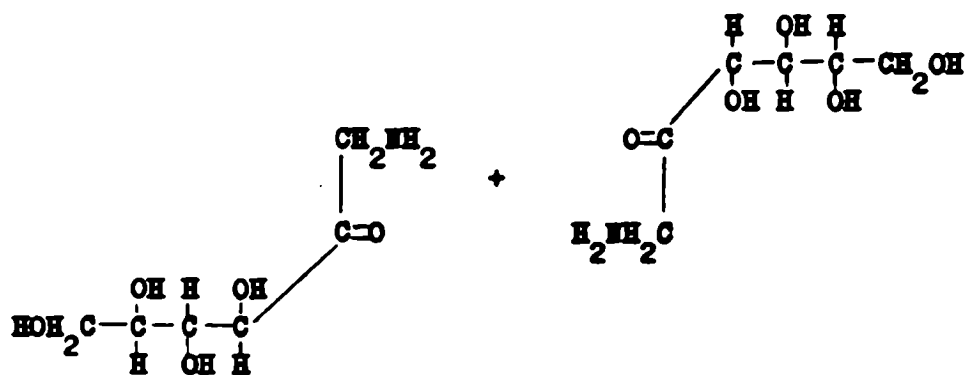
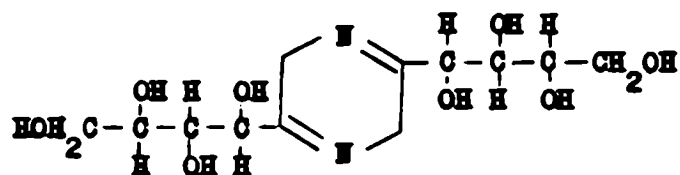
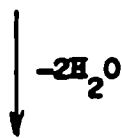


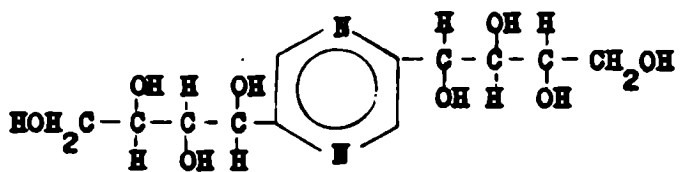
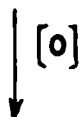
Figura 11. - Espectro de R.M.N. de la 2,5-bis-(L-xilo-tetrahidrobutil)piracina (270), en D₂O



281

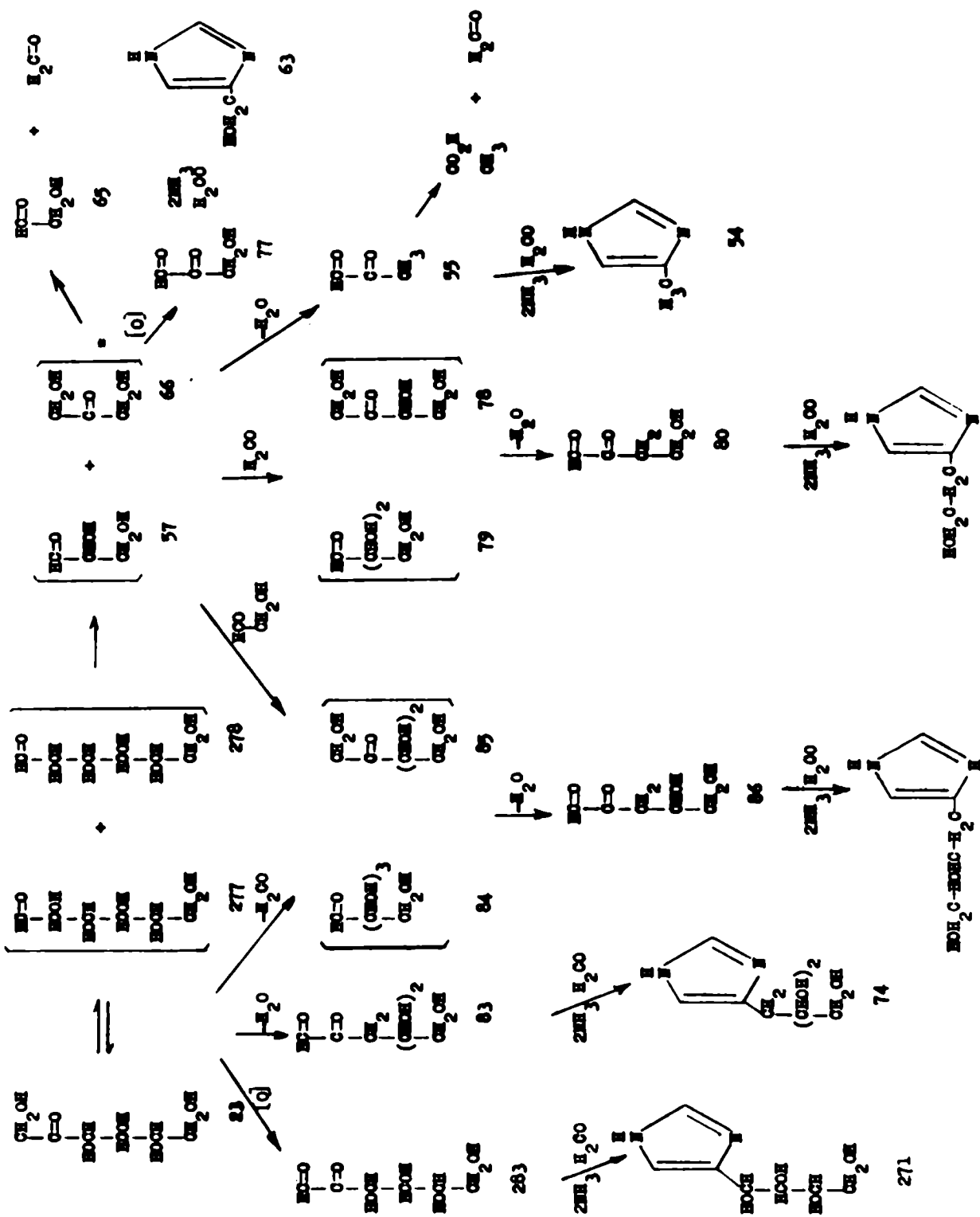


282



270

Esquema XLVI



Este camino originaría un imidasol cuya cadena lateral posee en el C-2 y C-3 la configuración original de la cetohecosa (23) y es ópticamente activo.

Por otra parte, una desaldolización de los compuestos 23, 277 y 278 daría una mezcla en equilibrio de gliceraldehído (57) y dihidroxiacetona (66) que por oxidación conduce a aldehído hidroxipirúvico (77) y por deshidratación a aldehído pirúvico (55). Los compuestos 77 y 55 por condensación con amoníaco y formaldehído conducen al 4(5)-hidroximetilimidazol (63) y 4(5)-metilimidazol (54) respectivamente.

Otra posibilidad de la mezcla de los compuestos 57 y 66 es una desaldolización para dar aldehído glicólico (65)^{69,83} y formaldehído. El aldehído glicólico por condensación con 57 y 66 daría una mezcla en equilibrio de aldopentosas (84) y cetopentosas (85) y cuya deshidratación daría la 3-desoxipentosa (86)⁸⁰. Si esta condensación tiene lugar con formaldehído se obtiene una mezcla de tetrasas (79) en equilibrio con 2-cetotetrosa (78) que por deshidratación daría una 3-desoxitetrosa (80)⁸³. La condensación de 86 y 80 con amoníaco y formaldehído daría 4(5)-(2,3-dihidroxipropil)imidazol (75) y 4(5)-(2-hidroxietil)imidazol (73) respectivamente.

Cuando las 3-desoxiosonas se originan por reacciones de desaldolización y deshidratación, los imidasoles formados poseen en la cadena lateral la configuración del azúcar original y son ópticamente activos, mientras que cuando las 3-desoxiosonas se forman además por recombinación de fragmentos la configuración original del azúcar no se mantiene y los imidasoles resultantes serían una mezcla racémica. En nuestro caso no fue posible aislarlos para verificar si poseían actividad óptica.

Sobre la base de que una alta concentración de amoníaco, al acelerar la velocidad de desacilación para dar L-sorbosa o bien al favorecer la ruptura de la cadena del azúcar, podría ser el factor que determinase la ausencia o escasa formación de productos de migración intramolecular, se llevó a cabo la reacción de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-octo-L-sorbosa (29) con amoníaco acuoso al 1%. Nuevamente se produjo una apreciable cantidad de melancoidinas, cuyo porcentaje (13,8%), referido a la cantidad de azúcar libre originalmente empleado en la reacción, fue menor que el determinado (20%) en la amonólisis realizada con una concentración de amoníaco del 24%.

Asimismo se evidenció mediante cromatografías en papel, una gran cantidad de productos junto con la formación de la 2-(L-xile-tetrahidroxibutil)-6-(L-treo-2,3,4-trihidroxibutil)piracina (269), pero a diferencia de la amonólisis a más alta concentración, la formación de imidasoles fue insignificante, lo que indicaría que en estas condiciones experimentales se habría producido menor fragmentación de la molécula.

Dada la complejidad de la reacción no se puede afirmar que no se hayan producido productos de migración intramolecular, pero en tal caso y como se mencionó anteriormente, su aislamiento no fue prácticamente viable.

A fin de limitar la complejidad de la reacción, se llevó a cabo la misma en isopropanol al 1%, disminuyendo de esa manera tanto la concentración del reactivo como el carácter nucleofílico del solvente. Se observó una mayor lentitud en la reacción, puesta de manifiesto, por la recuperación de cierta cantidad del acetato original. En esta experiencia se produjo el más alto porcentaje de melancoidinas (35,3%) evidenciado en todas las experiencias realizadas con el compuesto 29.

Por otra parte, las cromatografías en papel pusieron de manifiesto la formación de 2-(L-xilo-tetrahidroxibutil)-6-(L-treo-2,3,4-trihidroxibutil)piracina (269), observándose, por la intensidad de las manchas frente al reactivo de Pauly que la formación de imidasoles no había sido significativa.

Amonólisis de la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa.

La amonólisis de la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (262) con amoníaco isopropanólico al 5% (al 1% no se observó reacción) fue como en el caso anterior, una reacción lenta pues se recuperó una parte del benzoato original.

En esta reacción se obtuvo un 40% de melanoidinas aparte de trazas de 4(5)-metilimidazol (54). Es necesario destacar que además de la formación de benzamida y de benzoato de isopropilo se observó una formación elevada de benzoato de amonio (42,3%).

Más adelante (pag. 179) se discuten las posibles razones de este comportamiento.

Acción del amoníaco sobre la L-sorbosa.

Se hizo reaccionar la L-sorbosa con amoníaco metanólico al 16% y acuoso al 24%, sacando muestras de la solución en distintos tiempos.

Si se considera que una reacción positiva con ninhidrina en el origen del cromatograma tiene valor diagnóstico acerca de la formación de melanoidinas, en la acción directa sobre la L-sorbosa en metanol reacción se observó reacción positiva al cabo de ocho días. Este se confirma ya que a los ocho días se revelaron manchas en el origen con el reactivo de nitrato de plata-metóxido de sodio. En medio acuoso la formación de melanoidinas habría comenzado a las 24 h.

Los imidazoles formados, por su fácil detección, permiten determinar en que medida la presencia de acilos influye en las rupturas que los origina. Dichas sustancias se forman a partir del acetato 29 en medio acuoso después de un período de reacción con amoníaco de 2,5 h. En cambio en la reacción directa del amoníaco acuoso sobre la L-sorbose se observó que recién a partir de las 24 h se comenzaban a producir los imidazoles 54, 73 y 74 y a los ocho días se completó el esquema (imidazoles 63, 75 y 271) haciéndose de esta manera análogo al de la reacción del acetato. El empleo de metanol como solvente en la reacción sobre la L-sorbose si bien ofreció el mismo esquema complejo hizo que las rupturas se produjeran más lentamente que en medio acuoso, ya que la formación de imidazoles solo se evidenció al cabo de ocho días.

Estas experiencias indican como poco probable un mecanismo de desacilación total y ulterior reacción del amoníaco sobre el azúcar libre, y son congruentes con una fragmentación de la cadena del azúcar previa a la desacilación o concertada con ella. Esto podría explicarse suponiendo que los iones metoxilo e hidroxilo y el amoníaco, que son nucleófilos fuertes, atacan al carbono carbonílico del grupo acilo deficiente en electrones para dar el éster metílico, la sal del ácido o la amida respectivamente y un oxígeno con carga negativa en el azúcar que iniciaría la desaldolización. Este ataque sería más rápido que la eliminación de un protón de un hidroxilo del azúcar libre.

Además, la formación de imidazoles que provienen de la cadena original de seis carbonos también es más rápida con los ésteres que con el azúcar libre lo cual haría pensar que se facilitaría la formación de osonas y desoxiosonas. En caso de que el compuesto 74 fuera ópticamente activo, (es decir que no provenga de recombinación de fragmentos)

la desoxiosona necesaria podría formarse a partir de los azúcares parcialmente esterificados según un mecanismo similar al de formación de ácidos sacarínicos detallado anteriormente (esquema XIII) el cual se favorecería con la producción de rupturas aciloxi-carbono.

Asimismo, tanto en medio acuoso como en medio metanólico las cromatografías en papel reveladas con nitrato de plata-metóxido de sodio indicaron, dentro de un esquema complejo, manchas correspondientes a la 2-(L-xilo-tetrahidroxibutil)-6-(L-treo-2,3,4-trihidroxibutil)piracina (269) y 2,5 -bis-(L-xilo-tetrahidroxibutil)piracina (270).

Heyns y colaboradores¹²¹ estudiaron la reacción de la L-sorbosea con amoníaco líquido en presencia de cloruro de amonio. A baja temperatura se recobtuó prácticamente toda la sorbosea. En autoclave a 40° tampoco se produjo reacción y a 100° se obtuvo un jarabe oscuro con diez a quince manchas ninhidrina positivas que no fueron resueltas. Cuando la reacción se llevó a cabo por pasaje de amoníaco a través de una suspensión de L-sorbosea en metanol¹²⁰ al cabo de varias semanas se obtuvo un 30% de L-sorbosilamina. Deteniendo la reacción después de la disolución del azúcar (9 h) se obtuvo la di-L-sorbosilamina. En nuestras experiencias, no cristalizaron dichos productos aunque se detectaron en medio acuoso dos manchas ninhidrina positivas de R_{sorbosea} 0,41 y 0,75 atribuíbles a los mismos.

Separadamente se hizo reaccionar en cantidades preparativas la L-sorbosea con amoníaco metanólico al 16%, isopropanólico al 5% y acuoso al 24%. Se dejaron ocho días en contacto obteniéndose porcentajes de melanoidinas del 3,5%, 1% y 10% respectivamente. En las soluciones madres, libre de amoníaco, de estas experiencias, no se observó la producción de nuevas cantidades de melanoidinas al cabo de varios meses. En los tres casos se recuperó gran parte de la sorbosea original: en medio

metanólico 48,7%, en medio isopropanólico 87% y en medio acuoso 23%.

La recuperación de gran parte del azúcar y el comparativamente bajo rendimiento de melanoidinas confirma la influencia de los grupos acilo en la velocidad de formación y rendimiento de estas sustancias en la reacción.

Amonólisis de la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- β -D-fructopiranososa y de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-D-fructosa.

Ante la posibilidad de que el predominio de mecanismos de migración intramolecular en el caso de cetosas, pudiera depender de la configuración del éster de partida se consideró razonable verificar el comportamiento frente al amoníaco de los ésteres de fructosa arriba indicados.

Asimismo, y dado que la conocida lentitud de amonólisis de los grupos benzoilo favorecería un mecanismo de migración intramolecular era razonable investigar la reacción de una cetosa más benzoilada, ya que el comportamiento antes descrito para la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa podría atribuirse a una insuficiente disponibilidad de benzofilos. Se eligió el tetrabenzoato de D-fructosa en razón de ser cristalino y fácilmente obtenible en estado puro, con buen rendimiento.

La reacción de la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- β -D-fructopiranososa (15) se llevó a cabo en amoníaco metanólico al 16% y la de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-D-fructosa (4) en amoníaco acuoso al 24%. Como en el caso de la amonólisis de los ésteres de sorbosa estudiados el objetivo inmediato fue lograr el aislamiento de sustancias nitrogenadas derivadas de la D-fructosa (1), producidas por migración intramolecular de acilos, y relacionadas estructuralmente con las obtenidas en el caso de aldosas aciladas²²⁵. El empleo de un medio acuoso en el caso del acetato

se basó en los mas altos rendimientos en dichos productos de migración que se observaron con aldosas aciladas²³¹. Sin embargo los productos de la reacción en medio acuoso o alcohólico fueron nuevamente mezclas muy complejas que por cromatografía en papel demostraron la presencia de sustancias con altos valores de R_{fructosa} .

Se procuró la separación de los componentes de esas mezclas mediante cromatografías en columnas de celulosa y carbón-celite, así como por cromatografías preparativas en papel.

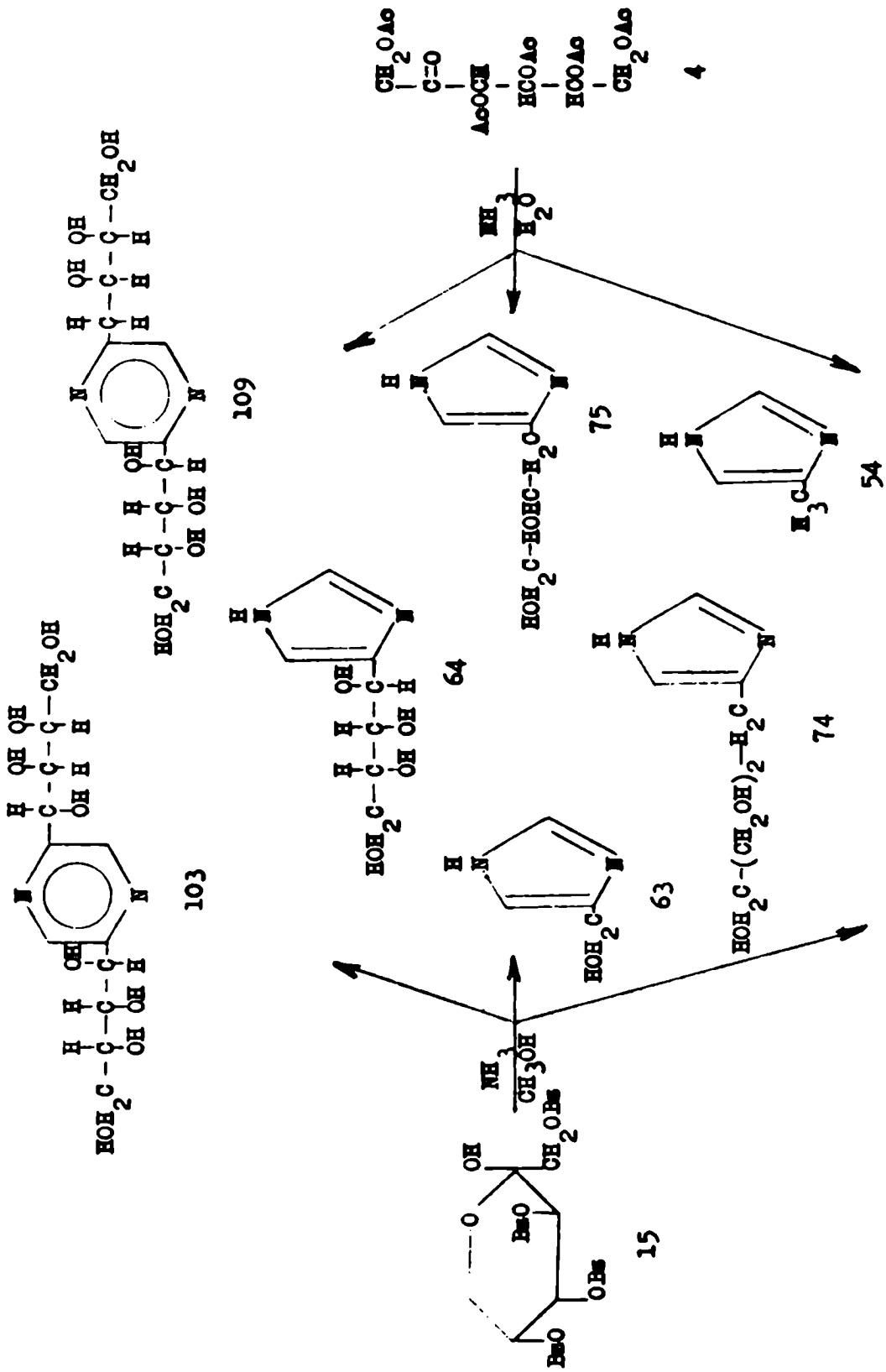
Ello condujo al aislamiento de dos bases heterocíclicas, la 2,5-bis-(D-arabino-tetrahidroxibutil)piracina (fructosacina, 103) y la 2-(D-arabino-tetrahidroxibutil)-5-(D-eritro-2,3,4-trihidroxibutil)piracina (desoxifruetosacina, 109). Se aislaron además las melanoidinas producidas y se pudieron reconocer los imidazoles presentes (ver esquema XLVIII).

En la amonólisis del compuesto 15 con amoníaco metanólico se obtuvo 3,6% de la piracina 103 y 2,2% de la 109, mientras que en la reacción de amonólisis de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-D-fructosa (4) con amoníaco acuoso los rendimientos fueron del 1,3% y del 1% respectivamente.

Los espectros U.V. y de R.M.N. de estas piracinas (ver figuras 12 y 13) confirmaron su estructura.

El espectro de R.M.N. de la fructosacina 103 dio H-3 y H-6 del anillo piracínico a τ 1,27 (s), H-1' y H-1" multiplete centrado en τ 4,81; H-2', H-2", H-3', H-3", H-4' y H-4" (8 protones), multiplete centrado en τ 6,15. El espectro U.V. dio $\lambda_{\text{máx}}$ 274,3 nm.

La desoxifruetosacina 109 mostró un espectro de R.M.N. donde H-3 y H-6 del anillo piracínico aparecen a τ 1,32 (s) y τ 1,49 (s); H-1' a τ 4,85 (s); H-2', H-2", H-3', H-3", H-4' y H-4" (8 protones) multiplete entre τ 6,05 y τ 6,32 y el metileno en C-1" a τ 6,90(m).



M E L A N O I D I M A S

Esquema XLVIII

H-2', H-2'', H-3', H-3'',
metilenos C-4', C-4''

H-3, H-6

H-1', H-1''

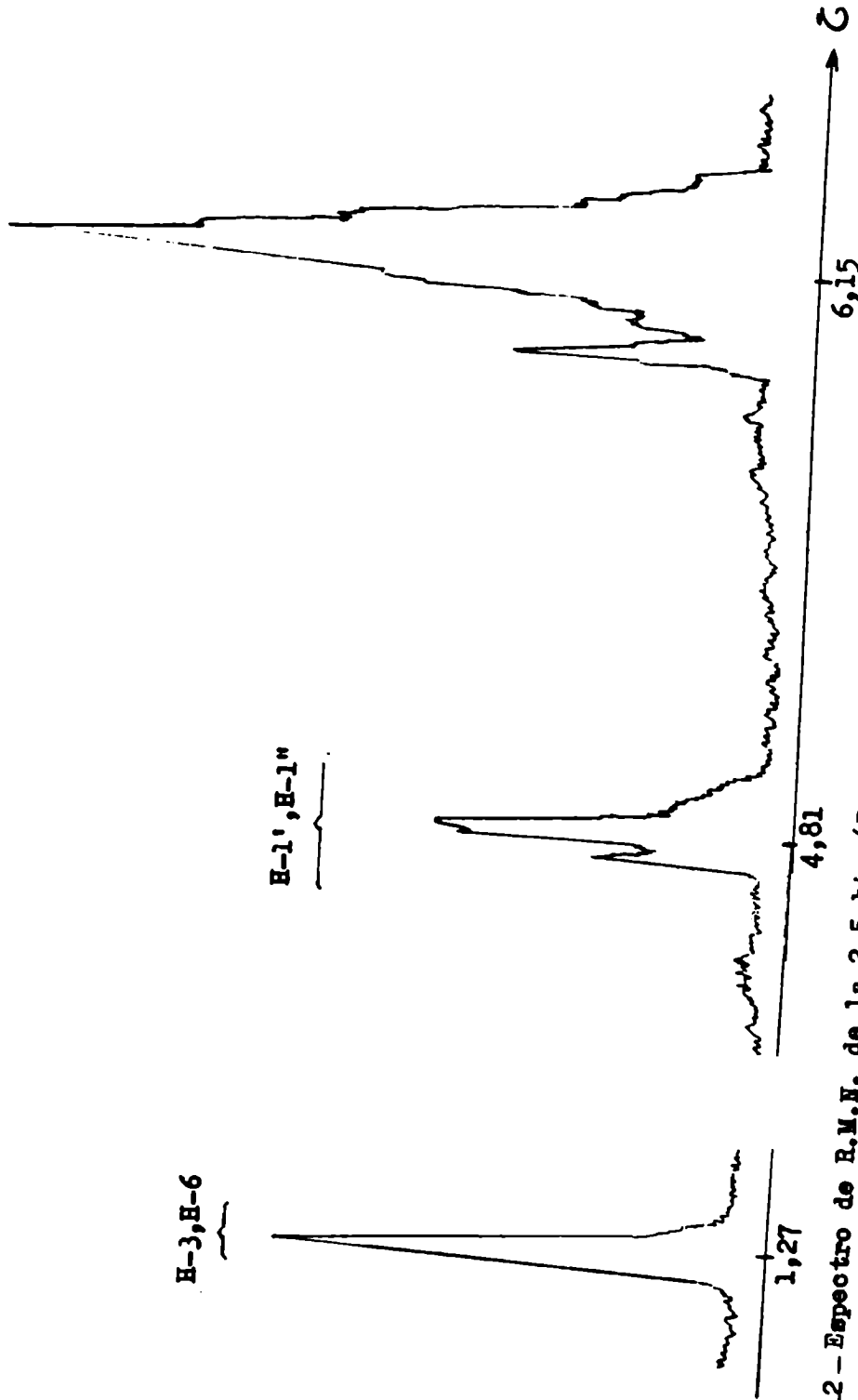


Figura 12 - Espectro de R.M.N. de la 2,5-bis-(D-arabino-tetrahydroxibutyl)piracina (103), en D₂O

H-2', H-2'', H-3', H-3'',
metileno C-4', C-4''

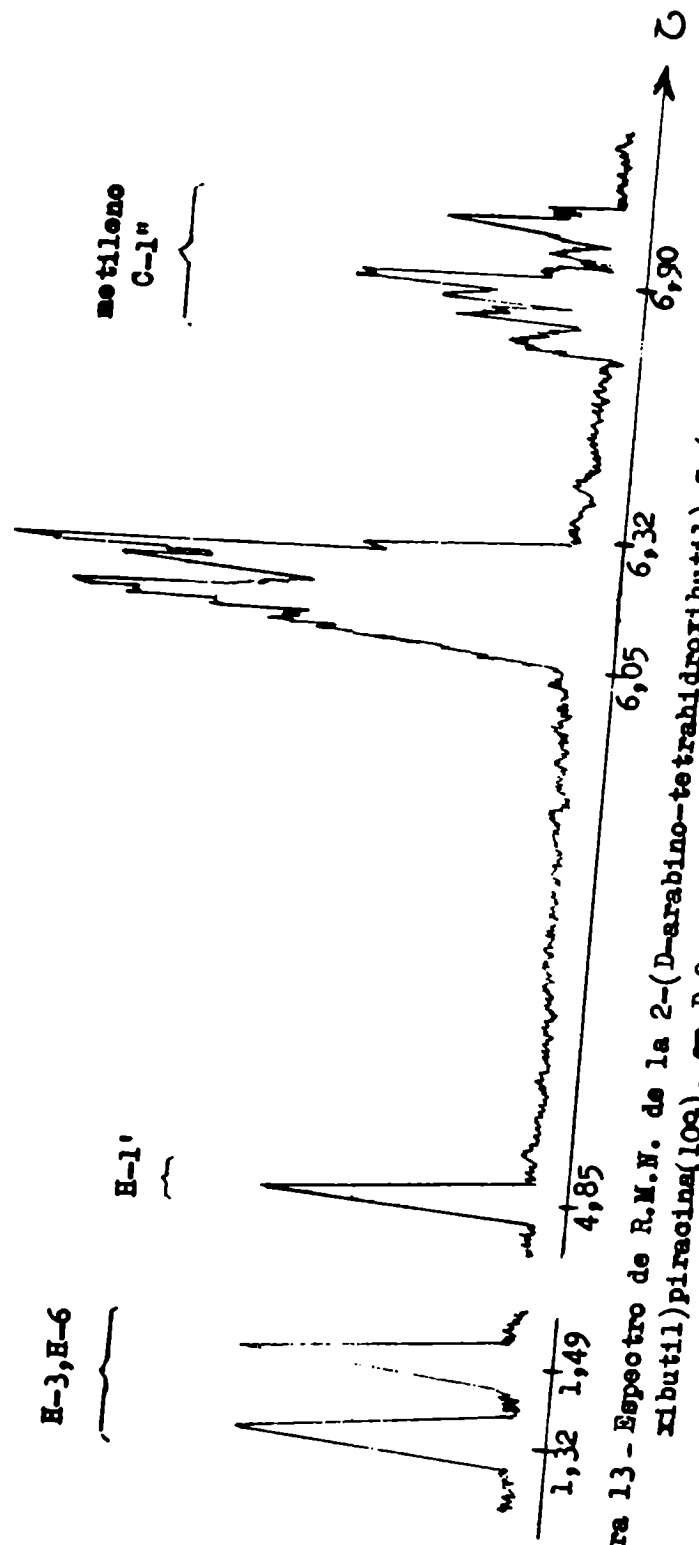


Figura 13 - Espectro de R.M.N. de la 2-(D-arabino-tetrahidroxibutil)-5-(D-eritro-2,3,4-trihidro-ributil)piracina(109), en D₂O

El espectro U.V. dió $\lambda_{\text{máx}}$ 275,7 nm.

En nuestro caso la fructosacina (103) se obtendría a partir de la fructosa liberada en las amonolisis. La acción del amoníaco sobre la D-fructosa daría la fructosilamina que por una transposición de Heyns conduciría a la 2-desoxi-2-amino-D-glucosa (102) [o la 2-desoxi-2-amino-D-manosa (135)]. La condensación de dos moléculas de este compuesto darían, según el mecanismo propuesto por Taha¹¹², la dihidropiracina sustituida 110 que se oxidaría en presencia del oxígeno del aire para dar la fructosacina (103) (ver esquema XXII).

La desoxifruetosacina (109) se formaría según el mecanismo propuesto por Kahn y colaboradores¹¹¹ a partir de la 2-desoxi-2-amino-D-glucosa (102) que se condensaría para dar la dihidropiracina 110 que en este caso por pérdida de una molécula de agua daría el compuesto 111 que se estabilizaría para formar el núcleo aromático de la desoxifruetosacina (109) (ver esquema XVIII).

Heyns y Meinecke¹¹⁹ estudiaron la reacción de la D-fructosa con amoníaco líquido y pusieron en evidencia la formación de un 10 a 35% de D-glucosamina, según las condiciones de la reacción. En nuestro caso dicha sustancia sólo fue detectada por cromatografía en papel.

La formación de compuestos imidasólicos pone en evidencia la fragmentación que sufre la molécula del azúcar original. Estos compuestos se separaron del jarabe principal empleando resinas de intercambio iónico. Mediante cromatografías en papel con testigos auténticos se identificaron: 4(5)-(D-arabino-tetrahidroxibutil)imidazol (64); 4(5)-(2,3,4-trihidroxibutil)imidazol (74); 4(5)-2,3-dihidroxipropil)imidazol (75); 4(5)-hidroximetilimidazol (63) y 4(5)-metilimidazol (54). La formación de estos imidazoles a partir de ésteres de fructosa puede racionalizarse extendiendo a estas sustancias las reacciones explica-

das para el caso de los derivados de la L-sorbosa (ver esquema XLVII).

Como en el caso de la amonólisis de los ésteres de sorbosa, no pudieron aislarse fragmentos de menor peso molecular al estado puro lo cual se puede atribuir a la presencia de melanoidinas solubles que no se han podido separar de los restantes productos por cromatografías en columna. Después de varios días a temperatura ambiente, los jarabes presentaron insolubilidad creciente con un incremento en la formación de melanoidinas insolubles lo cual sugiere que esos fragmentos podrían recombinarse para formar esos polímeros ^{162,209}, o bien que las melanoidinas solubles incrementan su grado de asociación.

El porcentaje de melanoidinas expresado en base a la cantidad de azúcar libre involucrada en la reacción, resultó para el caso del benzoato 15 del 25% y para el acetato 4 del 20% aproximadamente. El aislamiento y purificación de estos productos se basó en su insolubilidad en metanol. Ello no excluye la existencia de cierta cantidad de productos poliméricos solubles en este solvente, que son los que dificultan la separación de los restantes productos de la reacción.

Acción del amoníaco sobre la D-fructosa.

Las sustancias producidas: piracinas, imidazoles y melanoidinas, no se pueden considerar específicas de la reacción de los ésteres de cetosas con el amoníaco, sino que sería el azúcar libre el que reaccionaría, previa desacilación. Para verificar hasta que punto la formación del azúcar libre es un requisito previo o si cabe suponer un conjunto de estructuras intermedias en las que la molécula de D-fructosa parcial o totalmente esterificada esté determinando el curso de la reacción, se llevó a cabo, como en el caso de la L-sorbosa, un estudio de la acción del amoníaco metanólico al 16% y acuoso al 24% sobre

la D-fructosa.

Se sacaron muestras en períodos variables observándose que en medio metanólico recién a partir de las 24 h de contacto comienza a producirse el 4(5)-(D-arabino-tetrahidroxibutil)imidazol (64) y recién a las 120 h se detectaron el 4(5)-hidroximetilimidazol (63) y el 4(5)-metilimidazol (54). En amoníaco acuoso a las 24 h se comenzaron a detectar los imidazoles anteriores y el 4(5)-(2,3-dihidroxipropil)imidazol (75). En ambos casos se detectó un imidazol no identificada de $R_{\text{imidazol}} 0,50$.

Tanto en medio metanólico como en medio acuoso se reveló, por orgmatografía en papel, la presencia de fructosacina (103) y desoxifruetosacina (109).

En lo que respecta a las melanoidinas, el amoníaco metanólico, al cabo de ocho días de interacción con D-fructosa produjo 2,5% de polímero y el acuoso, al cabo del mismo tiempo, un 2,6%, confirmando-se así que la sustitución por acilos favorece la formación de imidazoles y melanoidinas.

Formación de melanoidinas

Se realizaron estudios estructurales preliminares con las melanoidinas obtenidas por acción del amoníaco acuoso al 24% sobre la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-L-sorbose (29). Se llevó a cabo la acetilación de estas sustancias con piridina-anhídrido acético, previa disolución en dimetilsulfóxido. Tanto las melanoidinas libres como su acetato dieron un espectro de R.M.N. que presentaba un multiplete complejo entre τ 5,50 - 6,77 y τ 6,09 - 6,79 respectivamente, correspondientes a protones etilénicos. El acetato presentó además un gran

multiplete de grupos acetilo entre ζ 7,59 - 8,22. No se observaron protones aromáticos.

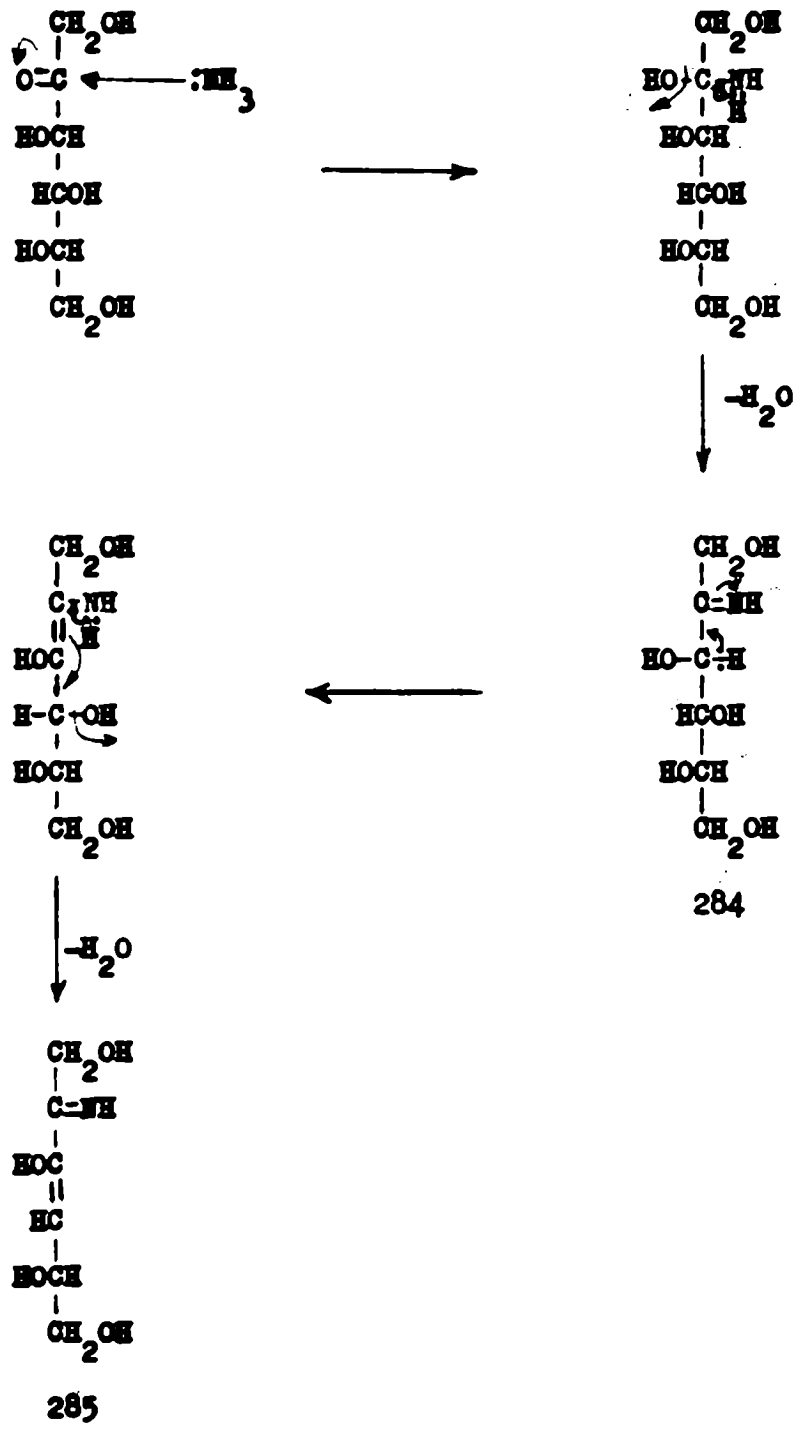
Los álcalis reaccionan en caliente con las melanoidinas desprendiendo amoníaco. Ello indica la presencia de grupos carboxilo al estado de sal de amonio, de grupos carboxamido o de grupos imino.

Una hidrólisis ácida produjo la liberación de grupos amino bloqueados ya que, en las cromatografías en papel aparecen manchas bien diferenciadas que reaccionan con ninhidrina. Esto sugiere la presencia de estructuras tipo base de Schiff, liberables por hidrólisis ácida.

La oxidación con agua oxigenada a 80° provocó la total decoloración de las melanoidinas, observándose en papel tres manchas revolvibles con ninhidrina. Se puede suponer que se trataría de sustancias aminadas y probablemente hidroxiladas en carbono terciario. Mediante un reactivo específico^{227,228}, se pudo detectar además la presencia de ácido piracintetracarboxílico. La presencia de este ciclo se confirma por la absorción a 279 nm del producto de oxidación.

Este máximo, se debería a los núcleos piracínicos tetrasustituidos presentes ya que por oxidación, las iminas α , β -no saturadas, que también absorben en ese range, han desaparecido.

La formación de sustancias hidroxiladas en carbono terciario podría explicarse por la formación de ácido saoarínico o isosacarínico (ver esquema XIII) o derivados de los mismos, como algunos de los múltiples intermediarios posibles en la formación de melanoidinas. Las sales de amonio o las amidas de estos compuestos serían las que dan resultado positivo frente al reactivo de Nessler.

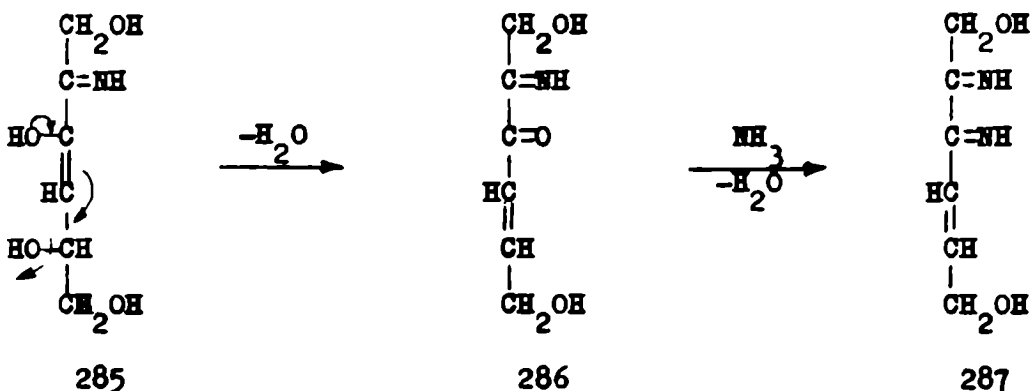


Esquema XLIX

Las cromatografías en papel de las melanoidinas obtenidas revelaron la presencia de enoles^{232,233}, pero no dieron resultado positivo frente al reactivo de Tillmann²³⁴, lo que haría pensar en la existencia de grupos enólicos que no forman parte de reductonas, mientras que podría existir en la molécula una estructura oxidada de tipo deshidro reductona que es la forma reactiva en la formación de melanoidinas.

Extendiendo a la reacción de la L-sorbosea con amoníaco las consideraciones hechas por Song y Chichester¹⁸⁶, la formación de melanoidinas podría iniciarse por ataque del amoníaco al carbonilo del azúcar. Una posterior reacción conduciría a la cetimina 284 la cual por reordenamiento y deshidratación daría la cetimina α , β -no saturada 285 (ver esquema XLIX).

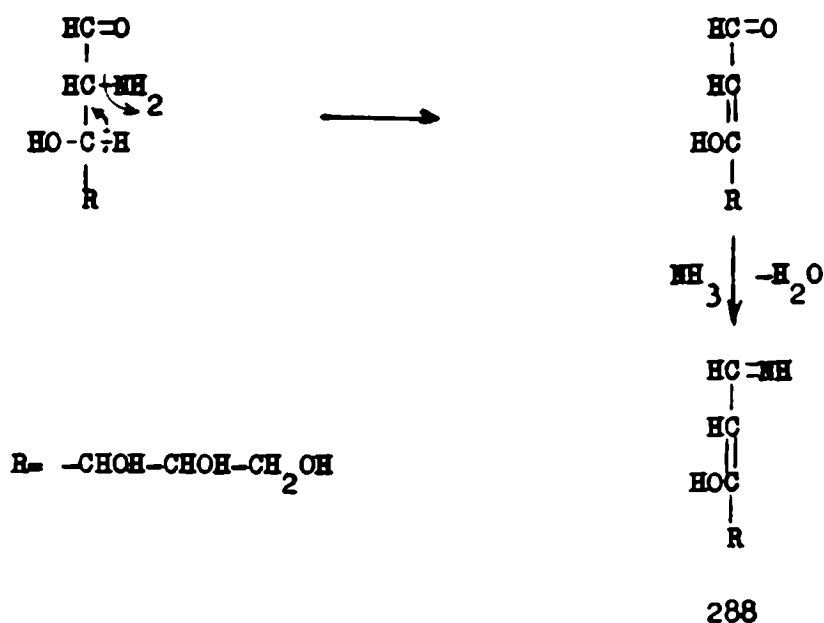
El compuesto 285 por deshidratación daría 286, el cual por ulterior reacción con amoníaco daría la dicetimina no saturada 287 (ver esquema L).



Esquema L

La polimerización de estos compuestos sería uno de los caminos posibles de formación de melanoidinas (ver sección IV).

Los amino azúcares intermediarios formados en las reacciones de amonolisis serían altamente reactivos para producir melanoidinas¹⁸⁶. El mecanismo de iniciación de esta reacción es también explicable en términos de la formación de una imina α, β -no saturada intermedia (288) (ver esquema LI).



Esquema LI

Además, es necesario considerar que los amino azúcares formados en la reacción, podrían reaccionar con las cetosas en lugar del amoníaco, lo cual daría lugar a iminas sustituidas que por hidrólisis darían compuestos revelables con ninhidrina.

Existen hechos que apoyan el mecanismo propuesto:

- a) La eliminación de varias moléculas de agua durante la reacción de formación de melanoidinas fue descrita por Maillard^{152,235}, lo cual está de acuerdo con la deshidratación propuesta.
- b) La formación de estructuras semejantes a las deshidro reductonas explica por que las melanoidinas obtenidas no reaccionan con el reactivo de Tillmann.
- c) Por estudios anteriores^{236,237} se sabe que la formación de iminas α , β -no saturadas y la polimerización de estos compuestos son reacciones catalizadas por bases.

La gran formación de melanoidinas en la amonólisis de cetosas aciladas comparada con la de aldosas aciladas se vincularía con una ruptura de tipo aciloxi-carbono, la cual estaría más favorecida en el caso de los benzoatos, por el carácter más electrofílico del grupo benzofilo, comparado con el acetilo. Podría postularse que la eliminación de un grupo aciloxi convenientemente ubicado (ver esquema XLIX), conduciría a la formación de un precursor susceptible de generar melanoidinas, ya que por pérdida de un protón conduciría a una doble ligadura o por ataque de un alcoxilo nucleofílico, tal como el metoxilo, daría uniones etéreas (ver pág. 124).

La ruptura aciloxi-carbono se puso en evidencia en la reacción de la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranosa (262) con amoniaco isopropanólico al 5% de la cual se aisló un 42,30% de benzoato de amonio. Además, el hecho de aislarse ácido benzoico en la reacción de la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- β -D-fructopiranosa (15) con amoniaco metanólico al 16% es atribuible también a una ruptura aciloxi-carbono. Esta ruptura conduciría a la formación inicial de benzoato de amonio, el

cual, tanto en medio metanólico como en el medio acuoso-butanólico empleado en las cromatografías en columna está en equilibrio con ácido benzoico.

Considerando que los mecanismos de formación imidazoles no requieren en forma importante ese tipo de fragmentación (ver esquema XLVII) y que, por otro lado, la formación de piracinas implica la integridad del azúcar libre original (ver esquemas XLV y XLVI), puede postularse una vinculación entre la ruptura aciloxi-carbono y la formación de esos polímeros. Probablemente aquellas moléculas del compuesto acilado que inicialmente experimentaron ese tipo de ruptura en alguno de sus grupos benzoato, se transformarían luego preferentemente en el sentido de originar melanoidinas.

Es necesario tener en cuenta también que los fragmentos de bajo peso molecular parcial o totalmente acilados, que son el resultado de reacciones de desaldolización del azúcar original también podrían sufrir reacciones de deshidratación, condensaciones y rupturas aciloxi-carbono.

Los pasos siguientes de la reacción de polimerización presentarían gran complejidad ya que se pueden producir un gran número de condensaciones diferentes entre los distintos monómeros, tales como los derivados de iminas, de deshidro reductonas, de compuestos enólicos, etilénicos, carbonílicos o carboxílicos, que están presentes en el medio de reacción.

En las reacciones de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-L-sorbosea (29) con amoníaco acuoso y amoníaco isopropanólico, ambos al 1%, se comprobó que en medio isopropanólico se producían los mayores rendimientos de melanoidinas. La presencia de iones isopropilato, mucho

menos reactivos como nucleófilos, permitía predecir una disminución en las reacciones de ruptura de la cadena del azúcar. El hecho de que en isopropanol no se formen imidazoles en forma significativa confirmaría la baja tendencia de la molécula a fragmentarse en ese medio. En estas condiciones se obtuvieron los más altos porcentajes de melanoidinas, lo cual puede atribuirse a que en isopropanol se mantiene la integridad del esqueleto del azúcar y disminuye la amonólisis simple de los acilos.

Por otra parte en la amonólisis del benzoato 262 el elevado porcentaje de benzoato de amonio aislado indica que estaría favorecida la ruptura aciloxi-carbono y esta conduciría primordialmente a la formación de melanoidinas.

De las experiencias realizadas se concluye que:

- a) La reacción de los ésteres de octosas frente al amoniaco acuoso o alcohólico produce prácticamente las mismas sustancias que la reacción directa del azúcar libre frente al mismo reactivo. Las reacciones de migración intramolecular de acilos serían prácticamente insignificantes.
- b) La presencia de los sustituyentes acilo promueve una inmediata ruptura de la molécula de octosa y la rápida formación de piracinas, imidazoles y melanoidinas. Estos productos se producen en la reacción análoga sobre el azúcar libre sólo después de períodos mucho más largos y con rendimiento mucho más bajos.
- c) La reacción de ésteres de octosas con el amoniaco no se produciría primordialmente a través de un mecanismo de desacilación y posterior reacción, sino que dicho mecanismo sería competitivo con una importante ruptura de la molécula de la hexosa acilada en fragmentos parcial o totalmente esterificados que a su vez se irían desacilando y probablemente, condensando entre sí.

d) Cabe vincular una ruptura aciloxi-carbono de los ésteres de las octohexosas con una preferente formación de melanoidinas.

CAPITULO VI

VI - PARTE EXPERIMENTAL

Técnicas Generales

Las cromatografías sobre papel se realizaron sobre papel Whatman N° 1 en forma descendente. Para las cromatografías sobre papel preparativas se empleó Whatman 3MM. En las cromatografías en columnas se utilizaron: celulosa Schuchardt; alúmina Fluka Tipo 507 C (neutra); carbón B.D.H. y celite 535 y para las cromatografías en placa delgada Kieselgel G (Merck).

Los poderes rotatorios se hicieron a 20-25° en un polarímetro O.C. Rudolph and Sons modelo 70 y la concentración se expresó en gramos soluto por 100 ml de solución. Los puntos de fusión no están corregidos. Las muestras para análisis se secaron al vacío sobre pentóxido de fósforo y a temperaturas aproximadamente 20° por debajo de su punto de fusión. Las evaporaciones se hicieron a presión reducida y a temperatura menor de 60°. Los espectros de R.M.N. se realizaron a 20-25° a 60 MHz con un espectrómetro Varian A - 60. Cuando se empleó como solvente deuteriocloroformo, piridina o dimetilsulfóxido se usó tetrametilsilano como estándar interno; con agua deuterada se empleó 5,5-dimetil-silopentano sulfonato de sodio como estándar. En el texto se emplean las siguientes abreviaturas: (s) singulete, (d) doblete, (t) triplete, (m) multiplete. Los espectros U.V. se determinaron mediante un espectrofotómetro Zeiss R.P.Q.20 C.

En las cromatografías se emplearon los siguientes solventes:

A - benceno - metanol (97:3 v/v)

B - benceno - acetato de etilo (19:1 v/v)

- C - 1-butanol - etanol - agua (10:2:3 v/v).
- D - benceno - metanol (197:3 v/v).
- E - benceno - metanol (99:1 v/v).
- F - 2-propanol - amoníaco conc. - agua (7:1:3 v/v).
- G - 1-butanol - agua (20:3 v/v).
- H - 1-butanol - etanol - agua (5:2:2 v/v).
- I - 2-propanol - 1-butanol - agua (7:1:2 v/v).
- J - 1-butanol - ácido fórmico - agua (4:1:1 v/v).
- K - 1-butanol - ácido acético - agua (4:1:1 v/v).
- L - metanol - 1-butanol - agua (7:1:2 v/v).
- M - etanol - amoníaco - agua (20:1:4 v/v).

Como reveladores se utilizaron los siguientes reactivos:

- a - Hidroxilamina alcalina - nitrato férrico, para ésteres y lactonas²³⁸.
- b - Ftalato ácido de anilina²³⁹.
- c - Urea - ácido clorhídrico para cetosas y sus metil derivados²⁴⁰.
- d - Nitrato de plata - metóxido de sodio²⁴¹.
- e - Sulfanilamida - (3-naftol - nitrito de sodio, para ácidos²⁴².
- f - Ninhidrina al 1% en acetona.
- g - Sulfato ferroso amónico - fluoruro de potasio, para ácidos piracincarcboxílicos^{227,228}.
- h - Diazo reactivo para compuestos imidazólicos²⁴³.
- i - Vapores de iodo.
- j - p-Dimetilaminobenzaldehído - ácido clorhídrico, para pirroles²⁴⁴.
- k - Cloruro férrico - agua oxigenada²⁴⁵.
- l - glucosa - anilina²⁴⁶.
- m - Ferricianuro de potasio - cloruro férrico para enoles²³³.
- n - Cloruro férrico - 2,2'-dipiridilo para enoles²³³.
- o - 2,6-Diclorofenolindofenol, para reductonas²³⁴.

SINTESIS DE ACETATOS Y BENZOATOS DE D-FRUCTOSA Y L-SORBOSA

1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-D-fructosa (4).

Se llevó a cabo la síntesis de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-D-fructosa según la técnica de Cramer y Paosu¹³. D-fructosa (10 g; 0,055 mol) finamente pulverizada se agregaron a una solución enfriada a 0° de 1 g de cloruro de zinc fundido en 100 ml (108,7 g; 1,06 mol) de anhídrido acético. La mezcla se agitó vigorosamente a esa temperatura durante 4 horas. La temperatura se mantuvo después 1 hora entre 20 y 25° y luego a 50° durante 2 horas. Se enfrió entonces la solución y se agitó con igual volumen de agua durante 1,5 h. Luego se diluyó y neutralizó con exceso de bicarbonato de sodio. Se obtuvo un jarabe que se disolvió en cloroformo. La solución acuosa se extrajo también con cloroformo y se unieron ambos extractos. Se sacó esta solución con cloruro de calcio, se filtró y evaporó al vacío hasta obtener un jarabe. Este jarabe se disolvió en aproximadamente 50 ml de éter absoluto y la solución se dejó una noche en heladera.

Como no se obtuvo el producto cristalino descrito en literatura¹³ el jarabe obtenido (12 g) se cromatografió en una columna (4,2 x 71 cm) de Silicagel Davison. Se eluyó primero con benceno y luego con mezclas de benceno - metanol en concentraciones crecientes de este último. Se recogieron fracciones de 20 ml. De las fracciones 1-22 (1% de metanol) se obtuvo un jarabe (9 g; 41,8%) cuya cromatografía en placa de Kieselgel G eluida con el solvente A y revelada con el reactivo (a) dió una única mancha; $[\alpha]_D + 31,6^\circ$ (c 0,4; cloroformo); lit¹³. $[\alpha]_D + 33,5^\circ$ (c 8,0; cloroformo); en literatura no se da punto de fusión.

1,3,4,5-tetra-O-benzoil- β -D-fructopiranososa (15).

Se preparó la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- β -D-fructopiranososa (15) según la técnica descrita por Brigl y Schinle²⁹. A una mezcla enfriada a -10° de 23,5 ml (28,67 g; 0,20 mol) de cloruro de benzoflo, 30 ml de piridina y 60 ml de cloroformo, se agregaron paulatinamente 9 g (0,05 mol) de D-fructosa finamente pulverizada. Se agitó una hora a -10° dejando luego el producto obtenido durante 30 h a temperatura ambiente. Se agregaron luego 100 ml de cloroformo y la solución cloroformica se lavó con agua (5 x 200 ml) ácido sulfúrico 2N (5 x 200 ml), solución saturada de bicarbonato de sodio (3 x 200 ml) y finalmente con agua (5 x 200 ml). La solución obtenida se secó con cloruro de calcio y se evaporó al vacío hasta obtener un jarabe.

A este jarabe se agregaron luego 60 ml de tetracloruro de carbono. Se obtuvieron entonces 21 g (70%) de producto cristalino que se recristalizó de etanol. P.f. $174-175^{\circ}$; $[\alpha]_D -164,5^{\circ}$ (c 0,5; cloroformo). Lit²⁹ p.f. $174-175^{\circ}$, $[\alpha]_D -164,9^{\circ}$.

1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-L-sorbosa (29).

Se preparó la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-L-sorbosa según la técnica descrita por Schlubach y Vorwerk³⁹. A una solución de 1 g de cloruro de zinc en 200 ml de anhídrido acético (217,4 g; 2,12 mol) enfriada a 0° se agregaron 10 g (0,055 mol) de L-sorbosa finamente pulverizada. Se agitó la mezcla 4 h y se dejó 30 h a temperatura ambiente. Se agregaron luego 250 ml de agua helada agitando continuamente hasta la disolución del producto. La mezcla de reacción se voló sobre 500 g de bicarbonato de sodio y se dejó 12 h. Luego se extrajo

con cloroformo, (5 x 200 ml), se secó la solución clorofórmica con cloruro de calcio y se evaporó al vacío a una temperatura menor de 40° hasta obtener un jarabe que se trató con 100 ml de etanol. Se obtuvo inmediatamente un producto cristalino (15,6 g; 73,2%) que después de recristalizado de etanol dió p.f. 97-98°; $[\alpha]_D + 2,7^\circ$ (c 0,8; cloroformo); lit³⁹ p.f. 96,5-97,5°; $[\alpha]_D + 2,9^\circ$ (c 2,0; cloroformo).

1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (262).

Se disolvió la L-sorbosa (18,0 g; 0,1 mol) a temperatura ambiente en piridina seca (300 ml). La solución se enfrió a -10° y se dejó una hora a esa temperatura agregándose luego, gota a gota, 57,6 g (0,41 mol) de cloruro de benzilo manteniendo la temperatura interna de la mezcla a -5°. Una vez finalizado el agregado se dejó la solución 1 h a -10° agitando periódicamente y se agregó hielo cada 40 minutos, agitando la mezcla y manteniendo la temperatura a -10° durante 5 horas. El producto obtenido se llevó a temperatura ambiente y se extrajo con cloroformo (4 x 100 ml). La solución clorofórmica se lavó sucesivamente con ácido sulfúrico M, solución saturada de bicarbonato de sodio y agua. La solución clorofórmica se secó con cloruro de calcio y se destiló al vacío. El jarabe se llevó a sequedad en desecador a presión reducida (44,8 g). El producto obtenido se trató con etanol caliente y se obtuvo un precipitado que después de dos recristalizaciones del mismo solvente dió p.f. 190; $[\alpha]_D - 20,7^\circ$ (c 0,2; piridina). La cromatografía en placa delgada dió una única mancha de R_f 0,38 (solvente A, reactivo a).

R.M.N. (piridina-d₅) (Figura 4): H-1a, H-1b a τ 5,02 (d); H-3 a τ 3,65 (d); H-4 a τ 4,74 (m); H-5 a τ 4,05 (m) y H-6a, H-6e a

ζ 5,50 (m).

Anal. Calcd. para $C_{27}H_{24}O_9$, C: 65,85; H: 4,87. Encontrado, C: 66,07; H: 4,85.

1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (35).

Los líquidos madres de la obtención de la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (262) se diluyeron con agua, precipitando un sólido que se filtró y llevó a sequedad en desecador al vacío. Esta sustancia era soluble en etanol frío, por lo que se suspendió en éter de petróleo (p.eb. 60-80°) caliente y se agregó benceno hasta disolución. Al enfriar se obtuvieron nuevas cantidades de la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (262, total 5 g) que se filtró.

Los líquidos madres se llevaron a sequedad repitiendo el tratamiento con éter de petróleo - benceno hasta que dicha mezcla de solventes no dió más precipitado. El residuo obtenido después de llevar a sequedad la solución era soluble en frío en metanol, etanol, cloroformo, tetracloruro de carbono y acetona. Se suspendió todo el producto en agua hirviente y se agregó metanol gota a gota hasta disolución total. Por enfriamiento se obtuvo un producto que recristalizado dos veces de etanol dió p.f. 134 - 135°, $[\alpha]_D + 49^\circ$ (c 0,7; N,N-dimetilformamida). Lit⁴¹. p.f. 133 - 135°, $[\alpha]_D + 49,8^\circ$ (c 1,0; N,N-dimetilformamida). La cromatografía en placa delgada dió una mancha de R_f 0,65 (solvente A, reactivo a).

R.M.N. ($CDCl_3$) (Figura 2): H-1a, H-1b a ζ 5,43 (s); H-3 a ζ 4,25 (d); H-4 a ζ 3,66 (t); H-5 a ζ 4,50 (m); H-6a, H-6e a ζ 5,82 (d).

Anal. Calcd. para $C_{34}H_{28}O_{10}$, C: 68,45; H: 4,69. Encontrado, C:

68,75; H: 4,62.

La solución obtenida después de aislar la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (35) se llevó a sequedad en desecador al vacío (18,2 g) y se cromatografió por una columna (4,2 x 60 cm) de silicagel que se eluyó con benceno con cantidades crecientes de metanol, reco- giéndose fracciones de 50 ml. De las fracciones 37 a 41 (2,5% de meta- nol en benceno) se obtuvo la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopira- nosa (35). Rendimiento total 13 g (23,4%). De las fracciones 42 a 44 se obtuvo la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (262). El rendi- miento total de este producto fue de 21,1 g (42,8%). El resto de los productos de reacción (10,2 g) estaba constituido por sustancias co- loreadas que por cromatografía en placa delgada desarrollada con el solvente A y revelada con el reactivo (a) dió tres manchas atrasadas, una de las cuales permanecía en el origen. Esta fracción no se inves- tigió posteriormente.

Metil 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranosido (36)

La 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (35) (0,800 g; 0,0013 mol) se metiló con 2,8 ml (0,044 mol) de ioduro de metilo en presencia de 1 g de óxido de plata. Se agitó la mezcla 5 h a 60°, des- pués de las cuales se destiló el ioduro de metilo y el residuo seco se extrajo con éter etílico (10 x 5 ml). Se llevó esta solución etérea a sequedad y el metil 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranosido (36) cristalizó de etanol 80% a 5°; rendimiento 0,650 g (76,9%); p.f. +136°; $[\alpha]_D + 10,9$ (o 1,3; cloroformo). Lit.⁴¹ p.f. 134 - 136°; $[\alpha]_D$ 12,6° (o 1,0; cloroformo). Esta sustancia por cromatografía en placa delgada, dió una mancha más adelantada que el tetrabensoato sin meti-

lar y muy próxima al frente (solvente A, reactivo a).

Se trató de metilar la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (35) con una solución de diazometano en diclorometano según la técnica empleada más adelante para la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (262) pero en este caso no se obtuvo el metil derivado correspondiente.

R.M.N. (Cl_3CD) (Figura 3) H-1a, H-1b a τ 5,34 (d) y τ 5,64 (d); H-3 a τ 4,26 (d); H-4 a τ 3,83 (t); H-5 a τ 4,62 (m); H-6a, H-6e a τ 6,09 (m) y tres protones del metoxilo en C-2 a τ 6,54 (m).

1,3,5-tri-O-benzoil-4-O-metil- α -L-sorbopiranososa (264).

La 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (262) (1,1 g; 0,0022 mol) se disolvió en diclorometano (200 ml) y después de enfriar a 0° se agregaron dos gotas de trifluoruro de boro-eterato y luego una solución fría de diazometano en diclorometano (300 ml, obtenida a partir de 10 g de nitrosometilarea)²²². Después de cuatro horas a temperatura ambiente, la solución incolora se filtró y se evaporó a sequedad. Se obtuvo un jarabe que se purificó por cromatografía en una columna (170 x 15 mm) de silicagel. Se eluyó con benceno (60 ml) y con soluciones de metanol en benceno, al 1% (75 ml), 1,5% (45 ml) y 2% (195 ml). Se obtuvieron 25 fracciones de 15 ml cada una. De las fracciones 14 a 16 (benceno con 2% de metanol) se obtuvo 264 (0,680 g; 61%). Esta sustancia después de dos recristalizaciones de etanol dió p.f. 140°; $[\alpha]_D^{25} + 26,4^\circ$ (c 0,3; cloroformo). La cromatografía en placa delgada (solvente B) empleando el reactivo (a) dió una mancha de R_f 0,27.

R.M.N. (piridina- d_5) (Figura 5) H-1a, H-1b a τ 5,07 (d); H-3 a τ 3,90 (d); H-4 a τ 5,39 (t); H-5 a τ 4,37 (m); H-6a, H-6e a τ 5,70 (m); tres protones de metoxilo en C-4 a τ 6,47 (s).

Anál. Calod. para $C_{28}H_{26}O_9$, C: 66,39; H: 5,17. Encontrado, C: 66,80; H: 5,49.

4-O-Metil-L-sorbosa (265).

La 1,3,5-tri-O-benzoil-4-O-metil- α -L-sorbopiranososa (264) (0,55 g; 0,001 mol) se trató con 100 ml de solución de metóxido de sodio 0,01N en metanol durante 24 h a temperatura ambiente. La solución se neutralizó luego con resina Zoo-Karb 225 (H^+) y se llevó a sequedad. El producto obtenido se maceró tres veces con acetato de etilo llevando a sequedad en desecador al vacío después de cada tratamiento. Luego se extrajo con el mismo solvente (7 x 4 ml) para eliminar el benzoato de metilo, obteniéndose 0,170 g de producto desbenzoilado que se purificó por cromatografía en una columna (35 x 1 cm) de celulosa Whatman, eluyendo con el solvente C y recogiendo fracciones de 5 ml cada una. La fracción 4 dió por cromatografía en papel, desarrollada con el solvente C y revelada con el reactivo (b), una única mancha $R_{sorbosa}$ 2,00. Este producto recristalizado de metanol dió p.f. 133°; $[\alpha]_D - 31,8^\circ$ (c 0,6; agua). Estos datos coinciden con los registrados por Bosshard y Reichstein²²³ para la 4-O-metil-L-sorbosa (265).

Anál. Calod. para $C_{14}H_{14}O_6$, C: 43,29; H: 7,21. Encontrado, C: 43,35; H: 6,95.

Metil 1,3,5-tri-O-benzoil-4-O-metil- α -L-sorbopiranosido (266).

La 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (262) (1,0 g; 0,002

mol) se trató con 7,2 ml (0,116 mol) de ioduro de metilo y 1,87 g de óxido de plata, agitándose la mezcla de reacción durante 5 h a 60°. Se destiló el ioduro de metilo y el residuo se secó en desecador al vacío. Se extrajo luego con éter etílico (10 x 10 ml). Al evaporarse el éter se obtuvo un producto cristalino que cromatografiado en placa delgada, eluida con el solvente D y revelada con el reactivo (a) dió una mancha de R_f 0,83. Rendimiento 1,0 g (98%). Esta sustancia después de recristalizada de etanol dió p.f. 185°; $[\alpha]_D + 26,5^\circ$ (c 0,7; cloroformo).

R.M.N. ($CDCl_3$) (Figura 6): H-1a, H-1b a τ 5,55 (d); H-3 a τ 4,47 (d); H-4, H-6a y H-6e multiplete entre τ 5,75 y τ 6,33; H-5 a τ 4,74 (m) y los 6 protones de los metoxilos en C-2 y C-4 a τ 6,58 (s) y τ 6,60 (s).

Anál. Calcd. para $C_{29}H_{28}O_9$, C; 66,92; H; 5,38. Encontrado, C; 67,15; H; 5,30.

Metil 4-O-metil- α -L-sorbopiranosido (267).

El metil 1,3,5-tri-O-benzoil-4-O-metil- α -L-sorbopiranosido (266) (0,500 g, 0,00096 mol) se trató con 100 ml de solución de metóxido de sodio 0,01N en metanol durante 24 h a temperatura ambiente. La solución se neutralizó con resina Sec-Karb 225 (H^+) y se llevó a sequedad. El residuo se extrajo con éter de petróleo (p.eb. 60-80°; 3 x 3 ml) para eliminar el benzoato de metilo, obteniéndose 0,170 g de producto desbenzoilado. Esta sustancia tratada con etanol y llevada a sequedad dió un producto blanco de p.f. 117-118°, $[\alpha]_D - 77,4^\circ$ (c 0,2; agua).

La cromatografía en papel eluida con el solvente C y revelada

con el reactivo (c), utilizado para detectar cetosas y sus metil derivados, dió una mancha de R_{sorbosa} 3,41.

R.M.N. (Piridina- d_5) mostró dos picos de metoxilo a τ 6,14 y τ 6,60. Los protones restantes aparecen en una zona comprendida entre τ 5,50 y τ 6,07 como un multiplete.

Anál. Calcd. para $C_8H_{16}O_6$, C: 46,15; H: 7,74. Encontrado, C: 46,55; H: 8,07.

El metil 4-O-metil- α -L-sorbopiranosido (267) (0,130 g; 0,0006 mol) se sometió a una hidrólisis con 8 ml de ácido sulfúrico 1N, calentando en baño de agua hirviendo durante dos horas. La solución se neutralizó con carbonato de bario, se filtró el sulfato de bario y la solución acuosa se llevó a sequedad obteniéndose 0,100 g de producto bruto que se purificó por cromatografía descendente en papel 3MM dando la 4-O-metil-L-sorbosa (265)²²³, p.f. 133°; $[\alpha]_D - 31,5^\circ$ (c 0,3; agua).

Benzoilación de la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (262).

La 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (262) (0,200 g; 0,0004 mol) se disolvió en 5 ml de piridina seca a temperatura ambiente. La solución se enfrió a 5° y se agregó gota a gota 0,1 ml (e,11 g; 0,0008 mol) de cloruro de benzilo; se dejó 24 h a 5° agitando periódicamente y luego 5 h a temperatura ambiente. La solución se volcó sobre 200 ml de agua-hielo. El jarabe obtenido se lavó 5 veces con 100 ml de agua cada vez, se llevó a sequedad y se tomó con etanol. Esta solución se cromatógrafió en una placa de Kieselgel G eluída con el solvente A y revelada con el reactivo (a) usando como testigos los compuestos 262 y 35. Se obtuvo una mancha de R_f igual al de la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil-

α -L-sorbopiranosa (35). De la solución etanólica se obtuvieron 0,190 g de un precipitado que recristalizado de etanol dió p.f. y p.f. mezcla 134°; $[\alpha]_D + 49,5^\circ$ (c 0,34; N,N-dimetilformamida).

Hexabenzato I.

Se enfrió a -10° una solución de cloruro de benzoflo (210 ml; 1,8 mol) y piridina (410 ml) y se agregó lentamente L-sorbose pulverizada (18 g; 0,1 mol) y seca. Se agitó mecánicamente la mezcla de reacción durante 7 h a temperatura ambiente, se dejó luego a esa temperatura durante 60 h y se calentó 1 h a reflujo a 100° . Se dejó enfriar y se volcó sobre agua hielo (3 l.). Se obtuvo un jarabe que se decantó y se lavó repetidas veces con agua fría (6 x 1 l.), con agua caliente (5 x 1 l.), con solución de bicarbonato de sodio (20 x 2 l.) y nuevamente con agua. El jarabe residual se secó en desecador a presión reducida, obteniéndose 63,90 g. Se trató luego con etanol hirviendo quedando un residuo oscuro insoluble (3,5 g). Al enfriar la solución etanólica se obtuvo una sustancia cristalina que se filtró (15,050 g). Los líquidos madres se trataron como se indica más adelante.

El sólido precipitado se trató con tetracloruro de carbono, eliminándose por filtración un residuo oscuro insoluble (0,050 g). De la solución de tetracloruro de carbono precipitó primero el hexabenzato I de p.f. 166° (1,407 g; 1,75%). Este precipitado se recristalizó de tetracloruro de carbono caliente, obteniéndose p.f. 167° ; $[\alpha]_D + 46,5^\circ$ (c 0,3; cloroformo). Por cromatografía en placa delgada (solvente E, reactivo a) se obtuvo una única mancha de R_f 0,60.

Anál. Calcd. para $C_{48}H_{36}O_{12}$, C: 71,64; H: 4,46. Encontrado, C: 71,55; H: 4,40.

Hexabenzato II

De la solución de tetracloruro de carbono de la cual precipitó el hexabenzato I, cristalizó otra sustancia de p.f. 134° (8,131 g; 10,11%), soluble en éter etílico lo que permitió purificarla, separándola del producto de p.f. 167°, el cual era insoluble. Después de dos recristalizaciones de etanol, dió p.f. 136°; $[\alpha]_D - 43,1^\circ$ (c 0,5; cloroformo). Por cromatografía en placa delgada (solvente E, reactivo a) se obtuvo una única mancha de R_f 0,61.

Anál. Calcd. para $C_{48}H_{36}O_{12}$, C: 71,64; H: 4,46. Encontrado, C: 71,61; H: 4,21.

De la solución de tetracloruro de carbono de donde precipitaron los dos hexabenzatos quedó un jarabe (5,282 g) del cual no se pudo obtener ningún producto cristalino por ulterior tratamiento con tetracloruro de carbono. Por cromatografía en placa delgada de este jarabe (solvente E, reactivo a) se obtuvieron varias manchas que no fueron estudiadas.

Penta-O-benzoil- α -L-sorbopiranosa (268)

La solución etanólica de la cual precipitó la mezcla de hexabenzatos se concentró al vacío y se llevó a sequedad en desecador. Se obtuvo un jarabe (44,995 g) que se cromatografió en una columna de alúmina (4,5 x 70 cm) eluyendo primero con benceno y luego con soluciones de benceno con cantidades crecientes de metanol. Se sacaron fracciones de 50 ml.

El jarabe obtenido de las fracciones (1 - 136) eluidas con benceno se disolvió en acetona, se trató con carbón y se precipitó mediante el agregado de agua. Después de repetir dos veces esta opera-

ción se obtuvo un sólido amorfo (3,2 g; 2,28%), p.f. 64° (abl.) que escurre a 103°; $[\alpha]_D - 58,5^\circ$ (c 0,47; cloroformo). Por cromatografía en placa delgada, (solvente E, reactivo a) se obtuvo una única mancha de R_f 0,48.

R.M.N. (CDCl_3): H-3 a τ 3,27 (d); H-4 a τ 3,78 (t); H-5 a τ 3,93 (m); H-1a, H-1b a τ 4,84 (s); H-6a, H-6e a τ 5,20 (m).

Anál. Calcd. para $\text{C}_{41}\text{H}_{32}\text{O}_{11}$, C: 70,28; H: 4,57. Encontrado, C: 70,37; H: 4,81.

Las cromatografías en placa delgada de las restantes fracciones de la columna mostraron varias manchas de R_f 0,60; 0,48 y 0,30 y una mancha en el origen (solvente E, reactivo a). De estas fracciones no se pudieron obtener sólidos cristalinos o amorfos.

Desbenzoilación de la penta-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (268)

El compuesto 268 (0,040 g) se trató con metóxido de sodio 0,01N en metanol hasta alcalinidad (18,5 ml) y se dejó 24 h a temperatura ambiente. La solución se neutralizó luego con resina Zoo-Karb 225 (H^+). Se filtró la resina y se evaporó el solvente. El producto desbenzoilado se secó en desecador al vacío y luego se extrajo con éter de petróleo (6 x 2 ml) y con benceno (4 x 2 ml). Se comprobó que la desbenzoilación había sido total ya que por cromatografía en placa delgada (solvente A, reactivo a) no se observó ninguna mancha. El residuo se cromatografió en papel (solvente C, reactivos d y b). Solo se detectó una mancha de sorbosa, que se confirmó con el reactivo (c) para cetosas.

REACCION DEL AMONIACO CON ACETATOS Y BENZOATOS DE L-SORBOSA Y D-FRUCTOSA

Reacción de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-L-sorbosa (29) con amoníaco acuoso al 24%.

La 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-L-sorbosa³⁹ (39 g) se agitó con amoníaco acuoso al 24% durante 2,5 h hasta disolución. El solvente se evaporó y el jarabe obtenido se secó en desecador a presión reducida, luego se extrajo con acetato de etilo caliente (5 x 100 ml) para eliminar la acetamida y se secó nuevamente. El jarabe residual (26 g) se disolvió en metanol a ebullición y se dejó a temperatura ambiente tres semanas. Se obtuvo un precipitado marrón (melanoidinas 1,9 g) que se filtró y por posterior evaporación espontánea del solvente se obtuvieron nuevas cantidades de precipitado (1,7 g). La solución metanólica se evaporó y el residuo se secó al vacío en desecador. El jarabe obtenido se extrajo con acetato de etilo hirviente (5 x 60 ml) y se secó nuevamente obteniéndose 16 g de un producto siruposo.

Cromatografías en papel de este jarabe final y del precipitado, que se eluyeron con el solvente C y se revelaron con los reactivos (d) (b) y (f), mostraron un gran número de sustancias en el jarabe, mientras que el precipitado sólo evidenció una mancha en el origen característica de las melanoidinas.

Aislamiento de la 2-(L-xilo-tetrahidroxibutil)-6-(L-treo-2,3,4-trihidroxibutil)piracina. (269).

El jarabe residual (16 g) obtenido después de extraer con acetato de etilo se cromatografió en una columna de celulosa (4,5 x 70 cm).

Se eluyó con los solventes G (fracciones 1-183), C (fracciones 184-249), H (fracciones 250-273), I (fracciones 274-285), con metanol y finalmente con agua. Se recogieron fracciones de 50 ml.

De las fracciones 87-153 se obtuvieron 0,770 g de 269, que se recristalizó tres veces de etanol absoluto, p.f. 122°; $[\alpha]_D - 93,0^\circ$ (c 0,2; agua). Una cromatografía en papel (solvente C), empleando como revelador el reactivo (d) dió una sola mancha de R_{sorbosa} 0,69; con los reactivos (b) y (f) no se obtuvo ninguna mancha. Se aislaron nuevas cantidades de esta sustancia (0,9 g) como se indica más adelante, dando un rendimiento total del 11%.

Anal. calcd. para $C_{12}H_{20}N_2O_7$, C: 47,36; H: 6,63; N: 9,21. Encontrado, C: 47,21; H: 6,73; N: 9,20.

Aislamiento y estructura de la 2,5-bis (L-xilo-tetrahidroxibutil)piracina, (L-sorbosacina, 270).

De las fracciones 184-195 se aisló un precipitado coloreado (0,030 g) que se recristalizó tres veces de etanol absoluto en presencia de carbón decolorante, obteniéndose una sustancia cristalina (0,015 g), que por cromatografía en papel (solvente C, reactivo (d)) dió una sola mancha de R_{sorbosa} 0,44. Con los reactivos (b) y (f) no se obtuvo ninguna mancha. Este producto, recristalizado dos veces de metanol dió p.f. 175°-177°; $[\alpha]_D - 27^\circ$ (c 0,1; agua). U.V. (agua): $\lambda_{\text{max.}}$ 273,8 nm (ϵ 8.000). R.M.N. (D_2O) (Figura 11): H-3 y H-6 del anillo piracínico a τ 1,27 (s); H-1' y H-1'' a τ 4,94 (m); H-2', H-2'', H-3', H-3'', H-4' y H-4'' (8 protones) multiplete entre τ 5,84 y τ 6,54.

Este compuesto (0,006 g) se disolvió en 0,25 ml de agua oxigena-

da 6% alcalinizada con hidróxido de sodio (0,010 g). Se calentó a 80° durante 40 minutos, se llevó a temperatura ambiente y se agregó 0,02 ml de perhidrol. Se mantuvo luego el calentamiento a 80° durante 1 h. Se enfrió y se acidificó con ácido clorhídrico concentrado hasta pH 1. Se dejó 2 días en reposo, se evaporó el líquido en desecador al vacío y el residuo obtenido se trató con ácido clorhídrico-agua (1:1 v/v). Con la solución se hizo una cromatografía ascendente en papel (solvente J, reactivo g) en presencia de muestras auténticas de los ácidos 2,5 y 2,6-piracindicarboxílicos. Se obtuvo una mancha de R_f 0,46 de color violáceo-azulado que coincidió con el testigo del ácido 2,5-piracindicarboxílico. El ácido 2,6-piracindicarboxílico dió una mancha rojiza de R_f 0,62.

Tratamiento de las fracciones de la columna de celulosa. Compuestos imidazólicos.

Las cromatografías en papel (solvente C) de las fracciones obtenidas de la columna reveladas con el reactivo (d) indicaron en todos los casos un esquema sumamente complejo de manchas, (R_{sorbosa} 0,06; 0,10; 0,14; 0,17; 0,24; 0,33; 0,45; 0,50; 0,60; 0,70; 0,89; 1,00; 1,19; 1,39; 1,72; 2,32; 2,68; 3,42; 4,15 y 4,60) que se distribuyeron en siete fracciones principales. Se intentó fraccionar las mezclas más sencillas mediante cromatografías preparativas en papel Whatman 3MM, pero no se pudieron aislar productos cristalinos ni jarabes puros.

Las fracciones 35 a 153 de la columna de celulosa revelaron la presencia de imidazoles (solvente K, reactivo h), que se trataron de separar mediante una columna de resina Zeo-Karb (H^+) (2,6 x 60 cm). Se eluyó la resina sucesivamente con agua, amoníaco 0,5N, 1N y 2N.

La elución con agua (0,6 l) no dió manchas de imidasoles por cromatografía en papel, pero continuó dando un esquema complejo frente al nitrato de plata amoniacal.

De la elución con amoníaco 0,5N (0,5 l), por evaporación y disolución en etanol se aisló 2-(L-xilo-tetrahidroxibutil)-6-(L-treo-2,3,4-trihidroxibutil)piracina (269; 0,9 g); p.f. y p.f. mescla 122°. Por cromatografía en papel (solvente C, reactivo d) dió una única mancha de R_{corbosa} 0,68.

Las aguas madres del aislamiento de este producto, cromatografiadas en papel (solvente K, reactivo h) permitieron identificar, como producto principal el 4(5)-(L-xilo-tetrahidroxibutil)imidazol (271; R_{imidazol} 0,37) y además el 4(5)-(2,3,4-trihidroxibutil)imidazol (74; R_{imidazol} 0,66) y el 4(5)-(2,3-dihidroxipropil)imidazol (75; R_{imidazol} 0,74) mediante comparación con muestras auténticas.

La elución con amoníaco 1N dió una mancha débil de L-corbosacina (270).

La fracción de amoníaco 2N demostró contener por comparación con muestras auténticas 4(5)-(2-hidroxietil)imidazol (73; R_{imidazol} 1,01); 4(5)-(2,3,4-trihidroxibutil)imidazol (74; R_{imidazol} 0,66) y 4(5)-(2,3-dihidroxipropil)imidazol (75; R_{imidazol} 0,74), como productos principales, así como trazas de 4(5)-hidroximetilimidazol (63; R_{imidazol} 0,85) y 4(5)-metilimidazol (54; R_{imidazol} 1,17).

Estas fracciones amoniacales no solamente contenían imidasoles, sino también piracinas y melancoidinas.

Estructura de la 2-(L-xilo-tetrahidroxibutil) -6-(L-treo-2,3,4-tri-hidroxibutil)piracina (269)

Datos espectroscópicos

U.V. (agua): λ_{\max} 267 nm (ϵ 11.700). Lit^{114,226} da λ_{\max} 274 nm.
R.M.N. (D₂O) (Figura 9): H-3 y H-5 del anillo piracínico a τ 1,36 (s) y τ 1,47 (s); H-1' a τ 4,94 (d); H-2', H-2'', H-3', H-3'', H-4' y H-4'' (8 protones, multiplete) entre τ 5,84 y τ 6,46; metileno en C-1'' a τ 6,86 (m).

Oxidación con metaperiodato de sodio

El consumo de metaperiodato de sodio se determinó según el método espectrofotométrico²⁴⁷. Para ello el compuesto 269 (4,6 mg; $1,51 \times 10^{-5}$ mol) se disolvió en una solución 15 mM de metaperiodato de sodio (10 ml). La solución se mantuvo en la oscuridad a 30° y en tiempos determinados (ver Tabla V) se extrajeron muestras (0,1 ml cada una) que se diluyeron a 25 ml y se midió la absorbancia a 222,5 nm en un espectrofotómetro Beckman D.U.

La cantidad de ácido fórmico producida se determinó disolviendo 269 (12,2 mg; 4×10^{-5} mol) en una solución 0,1M (7 ml; 7×10^{-4} mol) de metaperiodato de sodio. Esta solución se mantuvo a 30° en la oscuridad y se tomaron alícuotas (0,4 ml) que se mezclaron con etilenglicol (0,16 ml) y se dejaron una hora en la oscuridad. Se titularon mediante una microbureta con solución de hidróxido de sodio 0,1M (fenolftaleína), haciendo paralelamente ensayos en blanco.

El formaldehído se determinó según la técnica espectrofotométrica²⁴⁸. Se disolvió el compuesto 269 (14 mg; $4,6 \times 10^{-5}$ mol) en una

solución 0,3M de metaperiodato de sodio (2 ml; 6×10^{-3} mol) y 1M de bicarbonato de sodio (2 ml). La mezcla se mantuvo en la oscuridad a 30° y se tomaron alícuotas (0,2 ml) que se mezclaron con ácido sulfúrico 0,5M (1 ml), con arsenito de sodio 1M (0,5 ml) y se llevaron a 25 ml.

Esta solución (1 ml) se mezcló con solución de ácido cromotrópico en ácido sulfúrico (10 ml) y se calentó 30 minutos en baño de agua a ebullición. Se llevó a temperatura ambiente y se midió la absorbancia a 570 nm en un espectrofotómetro Espectronic 20 (Bausch & Lomb).

Los resultados de la oxidación del compuesto figuran en la Tabla V.

TABLA V

Tiempo (horas)	IO_4Na moles / mol de 269	HCO_2H mol de 269	H_2CO
0,25	5,0	3,0	2,0
0,75	5,1	3,1	2,0
2,5	5,4	3,1	2,0
4	5,5	3,3	2,0
5	5,8	3,3	2,0
24	7,0	4,1	2,0
48	7,0	4,1	2,0

Oxidación de 269 con agua oxigenada

El compuesto 269 (0,150 g) se disolvió en agua oxigenada 6% (6 ml) previamente alcalinizada con hidróxido de sodio (0,240 g). Se dejó 2 h a temperatura ambiente, se calentó la solución en baño de

agua (0,5 h) a 80° y luego se agregó 0,4 ml de perhidrol. La solución se mantuvo a 80° hasta reacción negativa con el reactivo de Fehling (1 h). Después de enfriar la solución se acidificó a pH 1 con ácido clorhídrico concentrado y se dejó 48 h a 5°. Se decantó el sobrenadante del precipitado, el cual se trató nuevamente con ácido clorhídrico 5N. El precipitado dió λ_{\max} 277,5 nm (agua). La cromatografía ascendente en papel (solvente J, reactivo g) dió una mancha de R_f 0,67 que coincidió con la de una muestra pura de ácido 2,6-piracindicarboxílico (272). Una muestra de ácido 2,5-piracindicarboxílico dió R_f 0,49.

2,6-bis(metoxicarbonil)piracina (273).

El sólido obtenido en la oxidación arriba descrita se disolvió en una solución de diazometano en éter²⁴⁹ (8 ml). Después de 24 h a temperatura ambiente, la solución se evaporó y el residuo se sublimó a 90° /0,01 torr (12 mg) y cristalizó de agua; p.f. 126-127°; lit. da p.f. 126-127°¹¹⁷. La 2,5-bis(metoxicarbonil)piracina²⁵⁰ tiene un p.f. 168°.

2-(L-xilo-tetraacetoxibutil)-6-(L-treo-2,3,4-triacetoxibutil)piracina

El compuesto 269 (0,100 g) se disolvió por calentamiento en una mezcla (1:1 v/v) de anhídrido acético-piridina (3 ml), se dejó 24 h a temperatura ambiente y luego se llevó a sequedad en desecador a presión reducida. El jarabe coloreado (0,170 g) no cristalizó de los solventes usuales. Una cromatografía en placa delgada eluida con el solvente A y revelada con el reactivo (a) mostró una mancha de R_f 0,40 y otra en el origen.

Se cromatografió en una columna de Silicagel Davison (1,2 x 28 cm) recogiendo fracciones de 5 ml y empleando benceno y soluciones de benceno con concentraciones crecientes de metanol como eluyente. De las fracciones 63 a 86 (benceno con 1,5% de metanol) se obtuvo un jarabe incoloro (0,054 g), que dió una sola mancha en placa delgada de R_f 0,42 (solvente A, reactivo a); $[\alpha]_D - 51,7^\circ$ (c 0,5; cloroformo).

U.V. (metanol 10%): λ_{\max} 273,5 nm (ϵ 9.100). R.M.N. (Cl_3CD) (Figura 10): H-3 y H-5 del anillo piracínico a τ 1,60 (s) y τ 1,50 (s); H-1' a τ 3,90 (d); H-2', H-2'', H-3' y H-3'' multiplete entre τ 4,14 y τ 4,97; metilenos en C-4' y C-4'' a τ 5,77 (m); metileno en C-1'' a τ 6,87 (d). Los metilos de los restos acetilo aparecen entre τ 7,80 y τ 8,04.

Anál. Calcd. para $C_{26}H_{34}N_2O_{14}$, C: 52,17; H: 5,68; N: 4,68. Encontrado, C: 53,33; H: 6,44; N: 4,40.

Purificación de las melanoidinas.

El precipitado obtenido por la reacción de 29 con amoníaco acuoso al 24% (3,6 g; 20% en base al azúcar libre) se extrajo con metanol hirviente (4 x 100 ml) para eliminar sustancias de bajo peso molecular. El insoluble se disolvió en agua (10 ml) y se reprecipitó agregando un volumen igual de metanol. El precipitado obtenido se extrajo nuevamente con metanol hirviente (3 x 100 ml) y el insoluble, una vez secado se volvió a precipitar de agua por agregado de metanol. X

Se hicieron cromatografías en papel (solvente C) dejando correr varios días, revelando con (d) y (f). En todos los casos se obtuvieron únicamente manchas en el origen.

Con el solvente L y reactivos (m) y (n) se determinó la presen-

cia de estructuras enólicas, mientras que el reactivo de Tillmann para detectar reductonas no dió ninguna mancha (solvente L, reactivo e).

U.V. (agua): λ_{\max} 278,5 nm. R.M.H. (D_2O): multiplete complejo entre τ 5,50 y τ 6,77 (protones etilénicos).

Anal. Encontrado, C: 47,86; H: 5,85; N: 11,67.

Acetilación de las melanoidinas

Las melanoidinas (0,350 g) se disolvieron en dimetilsulfóxido (1,5 ml) y se agregó luego una mescla de piridina (16 ml) y anhídrido acético (19 ml). Se dejó 24 h a temperatura ambiente y después se calentó 1 h en baño de agua hirviente. Se volcó sobre agua hielo (100ml) y el precipitado oscuro obtenido (0,540 g) se filtró y se secó en desecador a presión reducida. El producto fue soluble en cloroformo y acetona, insoluble en agua, benceno y acetato de etilo. En placa delgada (solvente A; revelador 1) dió solo una mancha en el origen.

U.V. (metanol): λ_{\max} 256 nm. R.M.H. (dimetilsulfóxido): grupos acetilo multiplete mal resuelto entre τ 7,59 y τ 8,22 y otro multiplete complejo entre τ 6,09 y τ 6,79 de protones etilénicos.

Anal. Encontrado, C: 49,66; H: 4,96; N: 5,06.

Hidrólisis de las melanoidinas

a) Acción de álcalis: la solución acuosa de las melanoidinas (1 ml) se alcalinizó con solución de hidróxido de sodio y se calentó a ebullición. Se hizo un ensayo de los vapores desprendidos con el reactivo de Nessler sobre papel de filtro. Se obtuvo una coloración roja, indicando desprendimiento de vapores de amoníaco.

b) Acción de ácidos: las melanoidinas (0,050 g) se disolvieron

en ácido sulfúrico 1N (5 ml). Se calentó a reflujo 4 h, se neutralizó con carbonato de bario, se filtró y el filtrado se evaporó a presión reducida. Cromatografía sobre papel con el solvente C, revelando con el reactivo (d) dió manchas R_f 0,03; 0,05 y una mancha en el origen. Con el reactivo (f) se observaron R_f 0,01; 0,05; 0,08 y 0,12, (R_{sorbosa} 0,10; 0,28; 0,17 y 0,70). Las melanoidinas originales con ambos reactivos solo dieron manchas en el origen. No se revelaron indoles (reactivo h) ni compuestos pirrólicos (reactivo j). Con 2,4-dinitrofenilhidracina no se detectó sobre papel la presencia de compuestos carbonílicos.

Oxidación de las melanoidinas

Las melanoidinas (0,020 g) se disolvieron en agua oxigenada al 6% (4 ml) conteniendo hidróxido de sodio (0,060 g). La solución oscura se calentó en baño de agua a 80° durante 9 h, en cuyo lapso se decoloró completamente. Esta solución alcalina se cromatografió en papel (solvente L; reactivo f) observándose manchas de R_f 0,41; 0,46 y 0,65. El reactivo de Ehrlich²⁴⁴ no dió manchas. Se corrió también en papel una muestra acidificada a pH 1 y concentrada (solvente J, reactivo g) observándose una mancha de R_f 0,30 correspondiente a ácido piracintetracarboxílico.

La solución alcalina restante (3,5 ml) se diluyó hasta 20 ml con metanol, se neutralizó con resina Zeo-Karb 225 (H^+), se filtró y evaporó hasta sequedad. El jarabe residual, cromatografiado en papel (solvente L, reactivo f) dió R_f 0,46 y 0,65. Con el solvente C y reactivo (d) dió R_f 0,01; 0,06; 0,11 y 0,31. En este mismo solvente el reactivo (f) dió R_f 0,01; 0,06 y 0,11. Este producto de oxidación mostró

un λ_{\max} 279 nm (agua).

Reacción de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil- α -D-sorbose (29) con amoníaco acuoso al 1%.

La 1,3,4,5,6-penta-O-acetil- α -D-sorbose³⁹ (5 g) se disolvió en amoníaco acuoso al 1% (100 ml) y se dejó a temperatura ambiente durante 1 h agitando periódicamente. Luego se evaporó la solución repetidas veces hasta sequedad en presencia de etanol absoluto con el fin de eliminar totalmente el agua. El residuo se secó en desecador al vacío, se extrajo con acetato de etilo en frío y en caliente (10 x 30 ml) y se secó nuevamente. El jarabe obtenido (3,1 g) se trató con etanol absoluto, obteniéndose una solución que se dejó cuatro días en heladera, al cabo de los cuales se filtraron melanoidinas, (0,300 g; 13,8% en base al azúcar libre) según lo demostró una cromatografía en papel (solvente C, reactivo d) del precipitado. X

El filtrado se cromatógrafió en papel (solvente C) y por revelado con el reactivo (d) se observó gran cantidad de manchas en toda la extensión del cromatograma. El reactivo (b) solo dió nítidamente una mancha de sorbose. El reactivo (f) dió una mancha extensa junto al origen. Con el reactivo (h) no se obtuvieron manchas definidas de imidazoles.

La solución etanólica filtrada se concentró, diluyó con agua y se pasó por una columna de resina Zeo-Karb 225 (H^+) (1,7 x 40 cm). Se eluyó primero con agua (3 x 350 ml) y luego con amoníaco 1N (3 x 500 ml). Las fracciones se evaporaron y secaron en desecador.

Las cromatografías en papel de cada fracción (solvente C, reactivo d) indicaron un gran número de manchas, entre las que se observa -

ron 2-(L-xilo-tetrahidroxibutil)-6-(L-treo-2,3,4-trihidroxibutil)piracina (269, R_{sorbosa} 0,68) y sorbosa.

Con el reactivo (f) solo dieron manchas (R_{sorbosa} 0,30; 0,47 y 0,76) las fracciones eluidas con amoníaco.

Con el reactivo (h) (solvente K) solamente la segunda fracción amoniacaal dió manchas débiles de R_{imidazol} : 0,30; 0,61; 0,79 y 0,91 que no se identificaron.

Reacción de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-oeto-L-sorbosa (29) con amoníaco isopropanólico al 1%.

La 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-oeto-L-sorbosa (9 g) se agitó con amoníaco isopropanólico al 1% (200 ml) durante 2 h. Se filtró una cantidad de producto que no había reaccionado (0,350 g). La solución obtenida se evaporó, el jarabe residual se secó en desecador a presión reducida y el residuo se extrajo sucesivamente con acetato de etilo frío y caliente (10 x 50 ml). El residuo seco (3,2 g) se disolvió en agua y se pasó por una columna de resina Zeo-Karb 225 (H^+) (2,6 x 55 cm). Se eluyó con agua (4 x 400 ml), luego con amoníaco 1N (6 x 350 ml) y finalmente con amoníaco 2N (1 l.). Todas las fracciones se evaporaron al vacío y se secaron en desecador a presión reducida.

La primera fracción acuosa, por tratamiento del jarabe residual con metanol dió un precipitado de melanoidinas (1,4 g; 35,3% en base al azúcar libre), que cromatografiado en papel (solvente C, reactivo d) dió solamente una mancha en el origen. Por cromatografía en papel de la solución metanólica (solvente C) los reactivos (d) (b) y (f) indicaron gran cantidad de manchas entre las cuales solo fue posible identificar sorbosa y 2-(L-xilo-tetrahidroxibutil)-6-(L-treo-2,3,4-tri-

hidroxibutil)piracina (269). Con el reactivo (h) (solvente K) las fracciones amoniacaes dieron una mancha de $R_{\text{imidazol}} 0,73$ que coincidió con un testigo de 4(5)-(2,3-dihidroxiopropil)imidazol (75).

Reacción de la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (262) con amoníaco isopropanólico al 5%.

Se disolvió la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (5 g) por agitación en amoníaco isopropanólico al 5% (150 ml). Al cabo de 53 h a temperatura ambiente, se filtró un precipitado I oscuro (1,7 g) y la solución se concentró hasta pequeño volumen obteniéndose nuevas cantidades del precipitado anterior (0,100 g). La solución se evaporó, el residuo se secó en desecador y se extrajo con acetato de etilo hirviente (10 x 50 ml). Se obtuvo así un producto oscuro y pulverulento (0,250 g) que por cromatografía en papel (solvente C, reactivo d) dió solamente una mancha en el origen, característica de las melanoidinas.

El precipitado de melanoidinas I (1,8 g) se purificó por tratamiento con etanol hirviente, filtrando en caliente después de cada extracción. De estos extractos etanólicos se aisló benzoato de amonio (1,57 g; 42,3%). El insoluble en etanol (0,330 g) por cromatografía en papel (solvente C, reactivo d) dió una mancha en el origen. Con el solvente L y reactivos (m) y (n) se determinó la existencia de estructuras enólicas, mientras que con el reactivo de Tillmann para detectar reducciones no se obtuvo ninguna mancha (solvente L, reactivo o).

La fracción extraída con acetato de etilo se llevó a sequedad (2,76 g) y se extrajo con éter de petróleo en frío y en caliente (30 x 15 ml) para eliminar el benzoato de isopropilo. Estos extractos por cromatografía en papel (solvente C, reactivo d) indicaron la presencia

de benzamida y dieron un precipitado blanco que se extrajo con agua caliente (15 x 20 ml); una cromatografía en placa delgada del insoluble (0,297 g) indicó que se trataba de tribenzoato de sorbosa que no había reaccionado.

El insoluble en éter de petróleo (0,900 g) se trató con etanol y se filtró un residuo insoluble de melanoidinas (0,040 g). Una cromatografía en papel (solvente C, reactivo d) mostró que la solución etanólica estaba compuesta por benzamida y el tribenzoato de sorbosa original. La cromatografía en placa delgada (solvente A, reactivo a) confirmó la presencia de tribenzoato de sorbosa. Esta fracción soluble en etanol se llevó a sequedad y se trató con agua caliente (15 x 20 ml) quedando 0,450 g de benzoato que no había reaccionado. Total de tribenzoato original que no reaccionó: 0,750 g.

Cromatografías en papel (solvente K, reactivo h) del extracto primitivo de acetato de etilo dieron solamente una mancha de 4(5)-metilimidazol (54, R_{imidazol} 1,17).

El total de las melanoidinas (0,620 g; 40% en base al azúcar libre) se extrajo con metanol caliente (7 x 10 ml). El residuo se disolvió en agua y reprecipitó por agregado de metanol.

U.V. (H_2O): $\lambda_{\text{máx}}$ 304 nm.

Anál. Encontrado, C: 50,80; H: 6,12; N: 12,60.

Cuando esta reacción se realizó con amoníaco al 1% en isopropanol se recuperó totalmente el benzoato original.

Acción del amoníaco metanólico al 16% sobre la L-sorbosa.

Se disolvió la L-sorbosa (0,5 g) en amoníaco metanólico al 16% (50 ml). Se sacaron muestras (2 ml) de la solución en distintos tiem-

pos, de la siguiente manera: F I, 5 min.; F II, 2 h; F III, 4 h; F IV, 8 h; F V, 24 h; F VI, 48 h; F VII, 120 h; F VIII, 190 h.

Las fracciones se evaporaron inmediatamente y con los jarabes resultantes se hicieron cromatografías en papel (solvente C). Mediante revelado con diferentes reactivos se observaron los siguientes resultados: con el reactivo (d), F I a F III manchas de sorbosa y de R_{sorbosa} 5,13 y 5,63. F IV dió manchas R_{sorbosa} 0,41 (L-sorbosacina, 270). A partir de F VI se observó R_{sorbosa} 1,67 y en F VII, R_{sorbosa} 0,54; 0,73 (piracina 269) y 1,15. En F VIII, R_{sorbosa} 2,23 y 2,80. En cada caso solo se indican las nuevas manchas que se observaron juntamente con las aparecidas en fracciones anteriores. Con el reactivo (b) se observó una mancha de sorbosa en todas las fracciones y recién a partir de F V una de R_{sorbosa} 0,36. Con el reactivo (f) solo se observó una mancha en el origen en F VIII. Con el reactivo de imidazoles (solvente K, reactivo h) solo se observaron manchas nítidas en F VIII de 4(5)-(L-xilo-tetrahidroxibutil)imidazol (271, R_{imidazol} 0,37; 4(5)-(2,3,4-trihidroxibutil)imidazol (74, R_{imidazol} 0,66); 4(5)-(2,3-dihidroxipropil)imidazol (75, R_{imidazol} 0,74); 4(5)-hidroximetilimidazol (63, R_{imidazol} 0,85) y una mancha débil de R_{imidazol} 0,16.

acción del amoníaco acuoso al 24% sobre la L-sorbosa.

Se disolvió la L-sorbosa (0,5 g) en amoníaco acuoso al 24% (50 ml) y se tomaron muestras (2 ml) en tiempos análogos a los indicados anteriormente para la reacción con amoníaco metanólico. Cada fracción se evaporó y cromatografió en papel (solvente C) y se reveló con el reactivo (d). En F I se observaron manchas de sorbosa y de R_{sorbosa} 0,16 y 0,25. F II a F IV dieron manchas de R_{sorbosa} 0,40; 0,75 (posibles sor-

bosilaminas); 1,43 y 2,43. En F V y F VI manchas de R_{sorbosa} 0,46 y 0,66 (posibles piracinas) y finalmente en F VII y F VIII una nueva mancha R_{sorbosa} 0,33. Solo se indican las nuevas manchas de cada fracción que aparecen conjuntamente con las observadas en fracciones anteriores. Con el reactivo (b) se observó sorbosa en todas las fracciones, a partir de F II una mancha R_{sorbosa} 1,43 y en F VIII, R_{sorbosa} 0,33. Con el reactivo (f) a partir de F II se observaron dos manchas R_{sorbosa} 0,42 y 0,74 (posibles sorbosilaminas) y en F VIII una mancha R_{sorbosa} 0,33. Con el reactivo de imidazoles (solvente K, reactivo h) a partir de F V se revelaron 4(5)-(2,3,4-trihidroxi-butil)imidazol (74, R_{imidazol} 0,66); 4(5)-(2-hidroxietil)imidazol (73, R_{imidazol} 1,01) y 4(5)-metilimidazol (54, R_{imidazol} 1,17) y una mancha R_{imidazol} 0,50 que no se identificó. En F VIII se observaron además 4(5)-(2,3-dihidroxipropil)imidazol (75, R_{imidazol} 0,74), 4(5)-hidroximetilimidazol (63, R_{imidazol} 0,85) y 4(5)-(L-xilo-tetrahidroxi-butil)imidazol (271, R_{imidazol} 0,37).

Formación de melanoidinas en la reacción del amoníaco sobre L-sorbosa

Se hizo reaccionar separadamente L-sorbosa (3 g) con amoníaco metanólico al 16%, isopropanólico al 5% y acuoso al 24% (300 ml en cada caso). Se dejaron ocho días en contacto, luego se evaporó el solvente al vacío y se tomaron los residuos con metanol. En la reacción metanólica se filtraron 1,46 g de sorbosa y se obtuvieron 0,105 g de melanoidinas (3,5%). En medio isopropanólico quedaron 1,81 g de L-sorbosa sin disolver y 0,810 g que no reaccionaron. Se obtuvieron 0,030 g de melanoidinas (1%). La reacción en medio acuoso dió 0,707 g de L-sorbosa sin reaccionar y 0,328 g de melanoidinas (10%).

REACCION DE LA 1,3,4,5-TETRA-O-BENZOIL- β -D-FRUCTOPIRANOSA (15) CON AMONIACO METANOLICO AL 16%.

Aislamiento de 2,5-bis(D-arabino-tetrahidroxibutil)piracina (fructosacina 103).

La 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- β -D-fructopiranos²⁹ (60 g) se disolvió en amoniaco metanólico al 16% (1 l.) por agitación durante 20 min. y se mantuvo a temperatura ambiente 24 h. Se evaporó el metanol y el jarabe residual se secó en desecador a presión reducida y luego se extrajo con acetato de etilo frío (3 x 100 ml) y caliente (7 x 100 ml). El residuo seco (27 g) se disolvió en metanol caliente y por enfriamiento se obtuvieron 0,580 g (3,6%) de 103 que se recrystalizó de metanol. Cromatografiado en papel (solvente C, reactivo d) dió una mancha $R_{fructosa}$ 0,46; con los reactivos (b) y (f) no se obtuvo ninguna mancha. Recrystalizado dos veces de metanol-agua dió p.f. 236-237° (d), $[\alpha]_D - 80,8^\circ$ (c 0,2; agua). Lit.¹¹¹ p.f. 237° (d), $[\alpha]_D - 80^\circ$.

U.V. (agua): λ_{max} 274,3 nm (ϵ 9.300). Lit.¹¹⁴ λ_{max} 274 nm.
R.M.N. (D₂O) (Figura 12): H-3 y H-6 del anillo piracínico a τ 1,27 (s); H-1' y H-1'' multiplete centrado en τ 4,81; H-2', H-2'', H-3', H-3'', H-4' y H-4'' (8 protones), multiplete centrado en τ 6,15.

Anál. Calod. para C₁₂H₂₀N₂O₈, C: 45,00; H: 6,29; N: 8,75. Encontrado, C: 45,50; H: 6,25; N: 8,61.

La solución metanólica de la que se obtuvo la fructosacina se evaporó al vacío y se secó a presión reducida, obteniéndose 26 g de un jarabe que se cromatografió en una columna de celulosa (4,2 x 70 cm) empleando los solventes G, C, metanol y finalmente agua. Se recogieron

fracciones de 50 ml. Los cambios de solvente se hicieron en base a cromatografías en papel y al peso del producto obtenido en cada fracción. Las fracciones 1-31 (solvente G) fueron ácidas. Por cromatografías en papel (solvente M) reactivos (k) y (l) y (solvente F) reactivo (e) se comprobó la existencia de ácido benzoico (R_f 0,66) y se descartó la existencia de otros ácidos orgánicos. Con el solvente C y reactivo (d) se detectó benzamida (R_f 0,87) así como un conjunto numeroso de manchas de $R_{fructosa}$ variables entre 0,57 y 5,90. Esta fracción se trató con poca agua fría y el insoluble, constituido exclusivamente por benzamida y ácido benzoico, se tituló con HONa 0,01N (fenolftaleína), determinándose 1,4 g de ácido benzoico.

Aislamiento de 2-(D-arabino-tetrahidroxibutil)-5-(D-eritro-2,3,4-trihidroxiutil)piracina (desoxifruktosacina 109).

De las fracciones 94-129 (solvente G) de la columna de celulosa anteriormente descripta se aisló el producto 109 (0,330 g; 2,2%) que por cromatografía en papel (solvente C, reactivo d) dió una sola mancha $R_{fructosa}$ 0,70. Los reactivos (b) y (f) no dieron ninguna mancha. Esta sustancia se recristalizó dos veces de etanol, p.f. 162°; $[\alpha]_D - 80,0^\circ$ (c 0,5; agua). Lit.¹¹¹ p.f. 161-162°; $[\alpha]_D - 78^\circ$ (c 0,6; agua).

U.V. (agua) λ_{max} 275,7 nm (ϵ 8.400). Lit.¹¹⁷ λ_{max} 276 nm.
R.M.N. (D_2O) (Figura 13): H-3 y H-6 del anillo piracínico a τ 1,32 (s) y τ 1,49 (s); H-1' a τ 4,85 (s); H-2', H-2'', H-3', H-3'', H-4' y H-4'' (8 protones, multiplete) entre τ 6,05 y τ 6,32; metileno en C-1'' a τ 6,90 (m).

Anál. Calcd. para $C_{12}H_{20}N_2O_7$, C: 47,36; H: 6,60; N: 9,21. Encontrado, C: 47,62; H: 6,92; N: 8,97.

Los eluidos de la columna de celulosa se reunieron en cuatro fracciones principales I (1-53; 6,7 g); II (54-120; 4,1 g); III (121-248; 5,0 g); IV (249-294; 7 g), cuyas cromatografías en papel (solvente C, reactivo d) fueron muy complejas. Con reactivo (b) se comprobó en las fracciones I, II y III la presencia de sustancias reductoras, especialmente fructosa y otras de $R_{fructosa}$ 0,30 y 0,42. Con el reactivo (f) se verificó la presencia de compuestos cercanos al origen (melanoidinas) y una sustancia que corría como la D-glucosamina. Sólo se detectó ácido benzoico (solvente M, reactivo k) R_f 0,66 en la fracción I.

Las cuatro fracciones se cromatografiaron en papel para detectar imidazoles (solvente K, reactivo h) en presencia de testigos puros. En la fracción I se detectó 4(5)-(2,3,4-trihidroxitil)imidazol (74, $R_{imidazol}$ 0,66); 4(5)-(2,3-dihidroxitil)imidazol (75, $R_{imidazol}$ 0,74); 4(5)-hidroximetilimidazol (63, $R_{imidazol}$ 0,85) y 4(5)-metilimidazol (54, $R_{imidazol}$ 1,17). En las fracciones II y III se detectó una fuerte mancha correspondiente a 4(5)-(D-arabino-tetrahidroxilitil)imidazol (64, $R_{imidazol}$ 0,37).

Purificación de las melanoidinas.

La fracción IV (eluida con metanol y con agua, 7 g) estaba constituida en gran parte por las melanoidinas producidas en la reacción. Esta fracción se disolvió en agua, se filtró con poco carbón y a la solución acuosa se le agregó un volumen igual de metanol. El precipitado obtenido (4,5 g; 25% en base a la cantidad de azúcar libre inicial) se filtró y secó a presión reducida. Luego se reflujo tres veces con 100 ml de metanol cada vez. El insoluble se cromatografió en

→ bien coloreado.

papel (solvente C, reactivo d), obteniéndose solamente una mancha en el origen, característica de las melanoidinas. Con solvente L y reactivos (m) y (n) se detectó la presencia de estructuras enólicas, mientras que el reactivo de Tillmann para detectar reductonas no dió ninguna mancha (solvente L, reactivo o). Esta sustancia se reprecipitó dos veces más de metanol-agua para su análisis.

U.V. (agua) λ_{\max} 277,5 nm. R.M.N. (D_2O) multiplete entre τ 5,74 y τ 6,84 (protones etilénicos).

Anál. Encontrado, C: 43,75; H: 4,88; N: 9,68.

Formación de ácido benzoico.

El ácido aislado (1,4 g) de la columna de celulosa descrita anteriormente se habría originado a partir del benzoato de amonio producido por una ruptura aciloxi-carbono en el éster de partida.

Por otra parte los extractos de acetato de etilo también contenían ácido benzoico, por lo cual se extrajeron con éter de petróleo frío para eliminar el benzoato de metilo formado en la reacción. El residuo se trató con agua helada y el insoluble constituido por una mezcla de benzamida y ácido benzoico se tituló con HONa 0,01N (fenolf-taleína). Paralelamente se llevó a cabo un ensayo en blanco con benzamida pura. Se determinó así un total de 0,5 g de ácido benzoico, cantidad que se verificó indirectamente por tratamiento de la mezcla con solución saturada fría de CO_3Na para disolver el benzoico y aislamiento y pesada de la benzamida presente.

A fin de determinar la correspondencia entre el ácido benzoico presente y el benzoato de amonio que lo originó, se sometió benzoato de amonio puro a evaporaciones sucesivas en presencia de metanol tal

como se había hecho antes de extraer la mezcla de reacción con acetato de etilo. La muestra secada, por titulación con hidróxido de sodio 0,1N frente a un testigo de benzoato de amonio evidenció un 40% de ácido benzoico. Por consiguiente los 0,5 g de ácido benzoico obtenidos del extracto de acetato de etilo corresponderían a 1,2 g de benzoato de amonio. Cuando el benzoato de amonio tratado con metanol se sometió a evaporaciones sucesivas con el solvente C la titulación con hidróxido de sodio 0,1N frente a un testigo de benzoato de amonio dió un 93,5% de ácido benzoico, lo cual evidenció que los 1,4 g de ácido benzoico aislados de la columna de celulosa corresponderían a 1,49 g de benzoato de amonio.

Amonólisis de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-D-fructosa (4) con amoníaco acuoso al 24%.

La reacción de la penta-O-acetil-ceto-D-fructosa¹³ se estudió de acuerdo con la técnica descrita anteriormente para el benzoato 15. El jarabe obtenido de la reacción se extrajo con acetato de etilo y el residuo se pasó por resina Zeo-Karb 225 (H⁺) para separar las sustancias básicas. Por elución con agua se obtuvo un jarabe del que, por cromatografía en columna de celulosa, se aisló 1% de 2-(D-arabino-tetrahidroxibutil)-5-(D-eritro-2,3,4-trihidroxibutil)piracina (109), p.f. 161-162°; $[\alpha]_D - 79,6^\circ$ (c 0,6; agua). R_{fructosa} 0,71 (solvente C, reactivo d). Además se aisló 1,3% de la 2,5-bis-(D-arabino-tetrahidroxibutil)piracina (103) p.f. 237°; $[\alpha]_D - 81^\circ$ (c 0,3; agua). R_{fructosa} (solvente C, reactivo d) 0,46.

Por elución de la resina con ácido diluido y neutralización se obtuvo una fracción en la que por cromatografía en papel con muestras

auténticas se identificaron los imidazoles formulados en el Esquema XLVIII.

Por otra parte, de los jarabes obtenidos de las columnas de resina y de celulosa se aislaron productos pardos insolubles en metanol que dieron por cromatografía en papel una única mancha en el origen (solvente C, reactivo d). Su rendimiento fue del 20% en base a la azúcar libre involucrado en la reacción.

U.V. (agua) λ_{\max} 279 nm. R.M.N. (D_2O) solo evidenció un multiplete complejo entre τ 5,87 y τ 6,64 (protones etilénicos).

Anál. Encontrado, C; 47,64; H; 5,33; N; 8,85.

Acción del amoníaco sobre la D-fructosa.

Se realizaron dos experiencias paralelas disolviendo D-fructosa (0,5 g) en amoníaco metanólico al 16% (50 ml) y acuoso al 24% (50 ml) respectivamente. Se sacaron muestras (6 ml) a tiempos distintos, que se evaporaron inmediatamente y los jarabes resultantes se cromatografiaron en papel (solvente C). Los tiempos de extracción de muestras fueron 5 min (F I), 2 h (F II), 4 h (F III), 8 h (F IV), 24 h (F V), 48 h (F VI), 120 h (F VII) y 192 h (F VIII).

Empleando el reactivo (f) como revelador se observó que a partir de F II en ambas experiencias aparecía una mancha de R_{fructosa} 0,51 que corría como un testigo de D-glucosamina. A partir de F V se observaron manchas R_{fructosa} 0,15; 0,22 y 0,37 con este reactivo. Con el reactivo (b), se observaron desde F II tres manchas R_{fructosa} 0,31; 0,42 y 1,00. En medio acuoso, aparte de las anteriormente mencionadas se observó en todos los casos desde F I una mancha reductora R_{fructosa} 0,80. Estas sustancias no pudieron identificarse ni aislarse en una

experiencia realizada en escala preparativa.

Con el reactivo (d) desde F II se observaron por lo menos seis manchas; en medio acuoso ya a partir de F III se produjo un esquema definitivo como R_{fructosa} desde 0,08 a 2,34 de aproximadamente 15 manchas. En medio metanólico esta gran complejidad sólo se evidenció a partir de F V. En ambos medios se detectaron las manchas correspondientes a la fructosacina (103) y a la desoxifruetosacina (109).

Con el reactivo de imidazoles (solvente K, reactivo h) no se obtuvo ninguna mancha de F I a F IV, en la reacción metanólica. A partir de F V se reveló el compuesto 64 y una mancha no identificada R_{imidazol} 0,50. A partir de F VI se detectaron las sustancias 63 y 54.

Las fracciones F I a F IV de la reacción acuosa no revelaron imidazoles y recién a partir de F V se detectaron los imidazoles mencionados en el caso metanólico, así como el compuesto 75.

La producción de melanoidinas se determinó sobre 3 g de D-fructosa que se dejaron en contacto durante 8 días en sendas experiencias con amoníaco metanólico al 16% (300 ml) y acuoso al 24% (300 ml). Después de secar exhaustivamente los jarabes obtenidos se trataron con metanol y se filtraron las melanoidinas obtenidas en cada experimento. En medio metanólico se obtuvieron 0,075 g (2,5%) y en medio acuoso 0,080 g (2,6%).

En las soluciones madres, libres de amoníaco, de estas experiencias, no se observó la producción de nuevas cantidades de melanoidinas al cabo de varios meses.

Una experiencia preparativa en medio metanólico empleando columna de celulosa para aislar los productos de la reacción permitió aislar únicamente un 2,8% de la 2,5-bis-(D-arabino-tetrahidroxibutil)piracina (103).

RESUMEN

- 1) Se hizo una revisión de las publicaciones sobre síntesis de derivados acetilados y benzoilados de D-fructosa y L-sorbosa.
- 2) Se efectuó un resumen sobre los trabajos realizados acerca de la formación de compuestos imidazólicos y piracínicos por acción del amoníaco sobre hidratos de carbono.
- 3) Se realizó una revisión sobre formación de amino compuestos sobre cetosas.
- 4) Se describen los estudios más importantes sobre la formación de sustancias poliméricas coloreadas a partir de hidratos de carbono y amino compuestos.
- 5) Se sintetizaron la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- β -D-fruotopiranososa (15), la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-D-fructosa (4) y la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-L-sorbosa (29), según las técnicas descritas en la literatura.
- 6) Se llevó a cabo la síntesis de la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (262) la que se obtuvo con un rendimiento del 23,4%. Se demostró su estructura mediante métodos físicos y químicos. Esta sustancia se transformó por posterior benzoilación en la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (35) conocida, lo cual demostró la configuración del carbono anomérico. Sometiendo este tribenzoato (262) a una metilación con diazometano en diclorometano se obtuvo la 1,3,5-tri-O-benzoil-4-O-metil- α -L-sorbopiranososa (264), la cual se desbenzoiló con metóxido de sodio obteniéndose la 4-O-metil-L-sorbosa (265).

Cuando el compuesto 262 se trató con ioduro de metilo-óxido de plata se aisló el metil 1,3,5-tri-O-benzoil-4-O-metil- α -L-sorbopiranosido (266). Esta sustancia se desbenzoiló con metóxido de sodio en metanol, obteniéndose el metil 4-O-metil- α -L-sorbopiranosido (267) que por hidrólisis dio la 4-O-metil-L-sorbosa. Estas experiencias demostraron que los grupos hidroxilo libres del compuesto 262 eran los de los C-2 y C-4. El espectro de R.M.N. de 262 mostró un valor alto (10 Hz) de las constantes de acoplamiento lo cual indicó la existencia de una conformación 1C (L).

7) Se llevó a cabo la síntesis de dos hexabenoatos de sorbosa no descritos en la literatura y de la 1,2,3,4,5-penta-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (268) cuya estructura y conformación fueron determinadas por espectros de R.M.N.

8) Se estudió la amonólisis de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-L-sorbosa (29) con amoníaco acuoso al 24% obteniéndose la 2-(L-xilo-tetrahidroxibutil)-6-(L-treo-2,3,4-trihidroxibutil)piracina (269; 11%) y la 2,5-bis-(L-xilo-tetrahidroxibutil)piracina (270; 0,4%). Mediante cromatografías en papel y por comparación con muestras auténticas se identificaron: 4(5)-(L-xilo-tetrahidroxibutil)imidazol (271); 4(5)-(2,3,4-trihidroxibutil)imidazol (74); 4(5)-(2,3-dihidroxipropil)imidazol (75); 4(5)-(2-hidroxietil)imidazol (73); 4(5)-hidroximetilimidazol (63) y 4(5)-metilimidazol (54). En esta reacción se aisló también un 20% de melancoidinas expresado sobre la base del azúcar libre involucrado en la reacción.

La estructura de la piracina 269 se demostró estableciendo la ubicación de los sustituyentes en el anillo piracínico por oxidación con agua oxigenada y posterior preparación del éster metílico del ácido 2,6-piracindicarboxílico obtenido. El número y la ubicación de los

grupos hidroxilo en las cadenas laterales se determinó por oxidación con periodato de sodio. Los espectros U.V. y de R.M.N. confirmaron la estructura propuesta.

La estructura de la piracina 270 se determinó por oxidación con agua oxigenada y reconocimiento en cromatografía en papel del ácido 2,5-piracindicarboxílico y por espectros U.V. y de R.M.N.

9) Con el fin de verificar si se simplificaba el esquema de reacción se realizó la amonólisis del compuesto 29 con amoníaco acuoso e isopropanólico, ambos al 1%. Las reacciones resultaron igualmente complejas si bien se determinó una disminución en la formación de imidazoles y en el caso del amoníaco isopropanólico un aumento importante en la formación de melanoidinas.

10) Se realizó también la amonólisis de la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa (262) con amoníaco isopropanólico al 5%, obteniéndose un 40% de melanoidinas junto con trazas de 4(5)-metilimidazol. El porcentaje elevado de benzoato de amonio aislado en la reacción indicó que en la molécula de 262 se produjeron rupturas aciloxi-carbono.

11) Se compararon las reacciones anteriores de amonólisis de los ésteres de sorbosa con las reacciones del amoníaco metanólico al 16% y acuoso al 24% sobre la L-sorbosa. Se comprobó que en ambos casos se produjo una disminución en la formación de melanoidinas y un retardo en la formación de imidazoles con respecto a la amonólisis de los ésteres. Cabe destacar que en medio acuoso se revelaron dos manchas ninhidrina positivas atribuibles a amino azúcares.

Las reacciones en cantidades preparativas de la L-sorbosa con amoníaco metanólico 16%, isopropanólico 5% y acuoso 24%, después de ocho días en contacto dieron un porcentaje de melanoidinas del 3,5%,

1% y 10% respectivamente, los que no variaron al cabo de varios meses.

12) Se llevaron a cabo las amonolisis de la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- β -D-fructopiranososa (15) con amoníaco metanólico al 16% y de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-D-fructosa (4) con amoníaco acuoso al 24%. En ambos casos se aislaron, la 2,5-bis-(D-arabino-tetrahidroxibutil)piracina (fructosacina, 103) y la 2-(D-arabino-tetrahidroxibutil)-5-(D-eritro-2,3,4-trihidroxibutil)piracina (desoxifruetosacina, 109), ya descritas por Kuhn y colaboradores. Los espectros U.V. y de R.M.N. de estas piracinas confirmaron su estructura. En estas reacciones se aislaron además las melanoidinas producidas (25% y 20% respectivamente) y se reconocieron los imidazoles presentes (Fórmulas N° 64, 74, 75, 63 y 54). Se detectó glucosamina por cromatografía en papel.

13) Se compararon las amonolisis anteriores con las reacciones del amoníaco metanólico al 16% y acuoso al 24% sobre la D-fructosa. Se obtuvo también en este caso una disminución en la formación de melanoidinas y un retardo en la producción de imidazoles.

Las reacciones en escala preparativa de la D-fructosa con amoníaco metanólico al 16% y acuoso al 24% después de ocho días en contacto dieron 2,5% y 2,6% de melanoidinas respectivamente.

14) Paralelamente se realizaron ensayos preliminares acerca de la estructura de las melanoidinas que deberán ser encarados en escala preparativa y que permitieron postular la existencia de algunos elementos estructurales coincidentes con los propuestos anteriormente para este tipo de sustancias.

15) Se llevó a cabo una discusión e interpretación de los resultados

obtenidos y se propusieron las reacciones que podrían conducir en nuestro caso a la formación de piracinas, imidasoles y melancoidinas.



Two handwritten signatures in black ink. The signature on the left is written in a cursive style and appears to be 'L. H. ...'. The signature on the right is also cursive and appears to be 'R. ...'. Both signatures are written over a horizontal line.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 H. Winter, Ann., 244, 295 (1888).
- 2 E. Erwig y Koenigs, Ber., 23, 672 (1890).
- 3 D.H. Brauns, Verslag. Koninkl. Akad. Wetenschappen Amsterdam, 577 (1908). Chem. Abstr., 3, 318 (1909).
- 4 C.S. Hudson y D.H. Brauns, J. Amer. Chem. Soc., 37, 2736 (1915).
- 5 E. Pacsu y F.V. Rich, J. Amer. Chem. Soc., 55, 3018 (1933).
- 6 B. Helferich y R. Steinpreis, Ber., 91, 1794 (1958).
- 7 G.M. Christensen, J. Org. Chem., 27, 1442 (1962).
- 8 C.S. Hudson y D.H. Brauns, J. Amer. Chem. Soc., 38, 1216 (1916).
- 9 W.W. Haworth, E.L. Hirst y A. Learner, J. Chem. Soc., 1040 (1927).
- 10 C.S. Hudson y D.H. Brauns, J. Amer. Chem. Soc., 37, 1283 (1915).
- 11 F.M. Jaeger, Chem. Zentralbl., 1, 183 (1918).
- 12 C.S. Hudson, J. Amer. Chem. Soc., 46, 477 (1924).
- 13 F.B. Cramer y E. Pacsu, J. Amer. Chem. Soc., 59, 1148 (1937).

- 14 M.L. Wolfrom y A. Thompson, J. Amer. Chem. Soc., 56, 880 (1934).
- 15 H. Bredereck y G. Hörschle, Ber., 86, 1286 (1953).
- 16 F.B. Cramer y E. Paosu, J. Amer. Chem. Soc., 57, 1944 (1935).
- 17 I. Hennig, Ber., 86, 770 (1953).
- 18 H. Bredereck, Ber., 91, 515 (1958).
- 19 B. Helferich y H. Bredereck, Ann., 465, 166 (1928).
- 20 H. Bredereck y W. Protzer, Ber., 87, 1873 (1954).
- 21 A. Pictet y H. Vogel, Helv. Chim. Acta, 11, 436 (1928).
- 22 J.C. Irvine, J.W.H. Oldham y A.F. Skinner, J. Amer. Chem. Soc., 51, 1279 (1929).
- 23 J.C. Irvine y E.T. Stiller, J. Amer. Chem. Soc., 54, 1079 (1932).
- 24 W.W. Binkley y M.L. Wolfrom, J. Amer. Chem. Soc., 68, 2171 (1946).
- 25 J.C. Irvine y J.W.H. Oldham, J. Amer. Chem. Soc., 51, 3609 (1929).
- 26 H. Bredereck, G. Hörschle y W. Huber, Ber., 86, 1271 (1953).
- 27 H. Skraup, Monatsh., 10, 389 (1889).

- 28 A. Pancernow, Ber., 24 (Referata), 971 (1891).
- 29 P. Brigl y R. Schinle, Ber., 66, 325 (1933).
- 30 P. Brigl y R. Schinle, Ber., 67, 127 (1934).
- 31 P. Brigl y R. Schinle, Ber., 67, 754 (1934).
- 32 R.K. Ness y H.G. Fletcher, Jr., J. Amer. Chem. Soc., 74, 5344 (1952).
- 33 G. Arragon, Compt. Rend., 196, 1733 (1933).
- 34 G. Arragon, Bull. Soc. Chim. Mol., 16, 1243 (1934).
- 35 Y. Khouvine y G. Arragon, Bull. Soc. Chim. France Memoires, 5, 1404 (1938).
- 36 H.H. Schlubach y G. Graefe, Ann., 532, 211 (1937).
- 37 F.B. Cramer y E. Paosu, J. Amer. Chem. Soc., 59, 1467 (1937).
- 38 G. Arragon, Compt. Rend., 205, 735 (1937).
- 39 H.H. Schlubach y J. Vorwerk, Ber., 66, 1251 (1933).
- 40 M.L. Wolfrom, S.M. Clin y E.F. Evans, J. Amer. Chem. Soc., 66, 204 (1944).

- 41 H. Paulsen, E. Köster y K. Heyns, Ber., 100, 2669 (1967).
- 42 M. Matsui, M. Okada y M. Ishidate, Chem. Pharm. Bull., 16, 1288 (1968).
- 43 R. Kuhn, G. Krüger y A. Seeliger, Ber., 93, 1447 (1960).
- 44 E.S. Steele, J. Chem. Soc., 113, 257 (1918).
- 45 M.L. Wolfrom, S.W. Waisbrot y R.L. Brown, J. Amer. Chem. Soc., 64, 2329 (1942).
- 46 M.L. Wolfrom y A. Thompson, J. Amer. Chem. Soc., 68, 791 (1946).
- 47 T.N. Montgomery, J. Amer. Chem. Soc., 56, 419 (1934).
- 48 E. Reinefeld y S. Klandianos, Zucker., 21, 236 (1968). Chem. Abstr., 69, 67631 s (1968).
- 49 L. Zervas y P. Sessler, Ber., 66, 1698 (1933).
- 50 E. Fischer y H. Noth, Ber., 51, 321 (1918); J. Chem. Soc., C X I V, I, 225 (1918).
- 51 W.R. Sullivan, J. Amer. Chem. Soc., 67, 837 (1945).
- 52 F.R. Japp y H.H. Robinson, Ber., 15, 1268 (1882).

- 53 B. Radziszewsky, Ber., 15, 1493 (1882).
- 54 B. Radziszewsky, Ber., 15, 2706 (1882).
- 55 H. von Pechmann, Ber., 21, 1411 (1888).
- 56 A. Windaus y F. Knoop, Ber., 38, 1166 (1905).
- 57 K. Bernhauer, Z. Physiol. Chem., 183, 67 (1929).
- 58 A. Windaus, Ber., 39, 3886 (1906).
- 59 A. Windaus, Ber., 40, 799 (1907).
- 60 C.A. Lobry de Bruyn y F.H. van Leent, Rec. Trav. Chim., 14, 129 (1895).
- 61 K. Inouye, Ber., 40, 1890 (1907).
- 62 A. Windaus y A. Ullrich, Z. Physiol. Chem., 92, 276 (1914).
Chem. Abstr., 9, 623 (1915).
- 63 A. Windaus y A. Ullrich, Z. Physiol. Chem., 90, 366 (1914).
Chem. Abstr., 8, 2401 (1914).
- 64 P. Girard y J. Parrod, Compt. Rend., 190, 328 (1930).
- 65 J. Parrod, Compt. Rend., 192, 1136 (1931).

- 66 J. Parrod y Y. Garreau, *Compt. Rend.*, 193, 890 (1931).
- 67 J. Parrod y Y. Garreau, *Compt. Rend.*, 195, 1110 (1932).
- 68 J. Parrod, *Compt. Rend.*, 195, 285 (1932).
- 69 J. Parrod y Y. Garreau, *Compt. Rend.*, 194, 657 (1932).
- 70 J. Parrod, *Bull. Soc. Chim. France*, 51, 1424 (1932).
- 71 J. Parrod, *Ann. Chim. (Paris)*, 19, 205 (1933).
- 72 J. Parrod, *Bull. Soc. Chim. France*, 53, 196 (1933).
- 73 J.R. Totter y W.J. Darby, *Org. Synt.*, 24, 64 (1944).
- 74 R. Weidenhagen y R. Hermann, *Ber.*, 68, 1953 (1935).
- 75 R. Weidenhagen y R. Hermann, *Z. Wirtschaftsgruppe Zuckerind.*, 85, 126 (1935). *Chem. Abstr.* 29, 7327 (1935).
- 76 L. Hough, J.K.N. Jones y E.L. Richards, *J. Chem. Soc.*, 3854 (1952).
- 77 L. Hough, J.K.N. Jones y E.L. Richards, *J. Chem. Soc.*, 295 (1954).

- 78 L.F. Wiggins y W.S. Wise, Chem. Ind. (London), 657 (1955).
- 79 M. Kōmoto, Nippon Nogei Kagaku Kaishi, 36, 305, 310, 403, 407, 461, 464, (1962). Chem. Abstr., 59, 15361 d (1963).
- 80 S. Fujii, H. Tsuchida y M. Kōmoto, Agr. Biol. Chem. (Tokyo)., 30 (1), 73 (1966).
- 81 I. Ježo, Chem. Zvesti, 17, 126 (1963).
- 82 I. Ježo e I. Lužák, Chem. Zvesti, 17, 255 (1963).
- 83 M.R. Grimmett y E.L. Richards, Australian J. Chem., 17, 1379 (1964).
- 84 H.G. Lento, J.C. Underwood y C.O. Willits, Food Res., 750 (1960).
- 85 M.R. Grimmett y E.L. Richards, Australian J. Chem., 18, 1855 (1965).
- 86 M.R. Grimmett y E.L. Richards, J. Chem. Soc., 3751 (1965).
- 87 M.R. Grimmett, Rev. Pure and Appl. Chem. 15, 101 (1965).
- 88 C.A. Lobry de Bruyn y W. Alberda van Ekenstein, Rec. Trav. Chim., 14, 195 (1895).
- 89 L. Hough y J.K. Jones, Nature, 167, 180 (1951).

- 90 M. Komoto, J. Agr. Chem. Soc. Japan, 36, 546 (1962).
- 91 M.R. Grismett, R.W. Bailey y E.L. Richards, Chem. Ind. (London), 651 (1965).
- 92 M.R. Grismett, R. Hodges y E.L. Richards, Australian J. Chem., 21, 505 (1968).
- 93 H.S. Isbell, J. Res. Natl. Bur. Stand., 32, 45 (1944).
- 94 J. Kenner y G.W. Richards, J. Chem. Soc., 1784 (1954).
- 95 R.L. Whistler y W.M. Corbett, J. Amer. Chem. Soc., 77, 3822 (1955).
- 96 J. Kenner y G.W. Richards, J. Chem. Soc., 278 (1954).
- 97 W.M. Corbett y J. Kenner, J. Chem. Soc., 3274 (1954).
- 98 W.M. Corbett y J. Kenner, J. Chem. Soc., 2245 (1953).
- 99 W.M. Corbett y J. Kenner, J. Chem. Soc., 1431 (1955).
- 100 W.L. Evans y R.C. Hockett, J. Amer. Chem. Soc., 53, 4384 (1931).
- 101 W.M. Corbett y J. Kenner, J. Chem. Soc., 3281 (1954).
- 102 S. Scichilone y A. Denaro, Gazzetta Chimica Italiana, 12, 416 (1882).

- 103 M.C. Tanret, *Compt. Rend.*, 100, 1540 (1885).
- 104 M.C. Tanret, *Compt. Rend.*, 106, 418 (1888).
- 105 C. Morin, *Compt. Rend.*, 106, 360 (1888).
- 106 P. Brandes y C. Stoehr, *J. Prakt. Chem.*, 54, 481 (1896).
- 107 C.A. Lobry de Bruyn, *Rec. Trav. Chem.*, 18, 72 (1899).
- 108 C.A. Lobry de Bruyn, *Ber.*, 28, 3082 (1895).
- 109 K. Stolte, *Chem. Zentralbl.*, I, 224 (1908).
- 110 K. Maurer y B. Schiedt, *Ber.*, 68, 2187 (1935).
- 111 R. Kuhn, G. Krüger, H.J. Haas y A. Seeliger, *Ann.*, 644, 122 (1961).
- 112 M.J. Taha, *J. Chem. Soc.*, 2468 (1961).
- 113 I. Ježo e I. Lužák, *Chem. Zvesti*, 17, 865 (1963).
- 114 S. Fujii, R. Kibuchi y H. Kushida, *J. Org. Chem.*, 31, 2239 (1966).
- 115 S. Fujii y H. Kushida, *J. Org. Chem.*, 31, 2406 (1966).
- 116 S. Fujii y H. Kobatake, *J. Org. Chem.*, 34, 3842 (1969).

- 117 E.A. Forlano, J.O. Deferrari y R.A. Cadenas, *Carbohydr. Res.*, 23, 111 (1972).
- 118 C.A. Lobry de Bruyn y Alberda van Ekenstein, *Rec. Trav. Chim.*, 16, 2612 (1897).
- 119 K. Heyns y K-H. Meinecke, *Ber.*, 86, 1453 (1953).
- 120 K. Heyns, H. Paulsen, R. Eichstedt y M. Rolle, *Ber.*, 90, 2039 (1957).
- 121 K. Heyns, R. Eichstedt y K-H. Meinecke, *Ber.*, 88, 1551 (1955).
- 122 F. Weygand, *Ber.*, 73, 1259 (1940).
- 123 J.E. Hodge y C.E. Rist, *J. Amer. Chem. Soc.*, 75, 316 (1953).
- 124 B. Helferich y A. Porck, *Ann.*, 582, 233 (1953).
- 125 A. Abrams, P.H. Lowy y H. Borsook, *J. Amer. Chem. Soc.*, 77, 4794 (1955).
- 126 B. Sorokin, *J. Prakt. Chem.*, 37, 292 (1888).
- 127 R.S. Morrell y A.E. Bellars, *J. Chem. Soc.*, 91, 1010 (1907).
- 128 R. Kuhn y L. Birkofer, *Ber.*, 71, 621 (1938).
- 129 C.P. Barry y J. Honeyman, *J. Chem. Soc.*, 4147 (1952).

- 130 Y. Inoue y K. Onodera, *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, 18, 427 (1942).
Chem. Abstr., 45, 9480 (1951).
- 131 B. Helferich y W. Ports, *Ber.*, 86, 604 (1953).
- 132 J.G. Erickson, *J. Amer. Chem. Soc.*, 75, 2784 (1953).
- 133 J.F. Carson, *J. Amer. Chem. Soc.*, 77, 1881 (1955).
- 134 J.F. Carson, *J. Amer. Chem. Soc.*, 77, 5957 (1955).
- 135 P.A. Levene, *J. Biol. Chem.*, 63, 95 (1925).
- 136 J.F. Carson, *J. Amer. Chem. Soc.*, 78, 3728 (1956).
- 137 K. Heyns, H. Paulsen y H. Schroeder, *Tetrahedron*, 13, 247 (1961).
- 138 F. Weygand, H. Simon, W. Ritterlich, J.E. Hodge y B.E. Fisher,
Tetrahedron, 6, 123 (1959).
- 139 K. Heyns, K-W. Pflughaupt y D. Müller, *Ber.*, 101, 2807 (1968).
- 140 J.L. Barclay, A.B. Foster y W.G. Overend, *J. Chem. Soc.*, 1541
(1955).
- 141 R.U. Lemieux, *Advan. Carbohydr. Chem.*, 9, 1 (1954).
- 142 G. Huber, *Helv. Chim. Acta*, 38, 1224 (1955).

- 143 F. Michael y I. Dijong, *Ann.*, 658, 120 (1962).
- 144 K. Heyns, K-W. Pflughaupt y H. Paulsen., *Ber.*, 101, 2800 (1968).
- 145 K. Heyns, H. Breuer y H. Paulsen, *Ber.*, 90, 1374 (1957).
- 146 K. Heyns, G. Müller y H. Paulsen, *Ann.*, 703, 202 (1967).
- 147 K. Heyns y H. Breuer, *Ber.*, 91, 2750 (1958).
- 148 K. Heyns y H. Noack, *Ber.*, 95, 720 (1962).
- 149 J.B. Hodge, *Agric. and Food Chem.*, 1, 928 (1953).
- 150 G.P. Ellis, *Adv. Carbohydr. Chem.*, 14, 63 (1959).
- 151 M.L. Wolfrom, L.F. Cavalieri y D.K. Cavalieri, *J. Amer. Chem. Soc.*, 69, 2411 (1947).
- 152 M.L.C. Maillard, *Compt. Rend.*, 154, 66 (1912).
- 153 J.L. Seaver y Z.I. Kertess, *J. Amer. Chem. Soc.*, 68, 2178 (1946).
- 154 B. Singh, G.R. Dean y S.M. Cantor, *J. Amer. Chem. Soc.*, 70, 517 (1948).
- 155 V.L. Kretovich y R. Tokareva, *Biokhimiya*, 13, 508 (1948).
Chem. Abstr., 43, 4501 g (1949).

- 156 M.L. Wolfrom y C.S. Rooney, J. Amer. Chem. Soc., 75, 5435 (1953).
- 157 P. de Lange y L.P. v.d. Mijl Dekker, Nature, 173, 1040 (1954).
- 158 J.E. Hodge y C.E. Rist, J. Amer. Chem. Soc., 75, 316 (1953).
- 159 M.F. Mashkovtsev, Biokhimiya, 16, 615 (1951)., Chem. Abstr., 46, 11114 g (1952).
- 160 M.L. Wolfrom, D.K. Kolb y A.W. Langer Jr., J. Amer. Chem. Soc., 75, 3471 (1953).
- 161 G. Haugeard, L. Tuzerman y H. Silvestri, J. Amer. Chem. Soc., 73, 4594 (1951).
- 162 C. Enders, Biochem. Zeitschrift, 312, 339 (1942).
- 163 H. Kato, M. Yamamoto y M. Fujinaki, Agr. Biol. Chem., 33, 939 (1969).
- 164 G.S. Bohart y J.F. Carson, Nature, 175, 470 (1955).
- 165 P-S. Song y C.O. Chichester, J. Food Science, 32, 98 (1967).
- 166 P-S. Song y C.O. Chichester, J. Food Science, 32, 107 (1967).
- 167 A. Gottschalk, Nature, 167, 845 (1951).

- 168 A. Gottschalk, *Biochem. J.*, 52, 455 (1952).
- 169 A. Gottschalk y S.M. Partridge, *Nature*, 165, 684 (1950).
- 170 M.L. Wolfrom, R.D. Schuetz y L.F. Cavalieri., *J. Amer. Chem. Soc.*, 71, 3518 (1949).
- 171 L. Friedman y O.L. Kline, *J. Biol. Chem.*, 184, 599 (1950).
- 172 C.C. Chichester, F.H. Stadtman y G. Mackinney, *J. Amer. Chem. Soc.*, 74, 3418 (1952).
- 173 K.S. Hannan y C.H. Lea, *Biochim. et Biophys. Acta*, 9, 293 (1952).
- 174 S.E. Kharin y R.A. Kolcheva, *Izv. Vysshikh. Uchebn. Zavedeni, Pishchevaya Tekhnol.*, 74 (1965). *Chem. Abstr.*, 63, 3785 a (1965).
- 175 M.S. Feather y K.R. Russell, *J. Org. Chem.*, 34, 2650 (1969).
- 176 T. Severin y W. Seilmeier, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 134, 230 (1967). *Chem. Abstr.*, 68, 13276 y (1968).
- 177 T. Severin y W. Seilmeier, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 137, 4 (1968). *Chem. Abstr.*, 69, 44124 x (1968).
- 178 U. Freimuth y A. Truetsbach, *Nahrung*, 12, 887 (1968). *Chem. Abstr.*, 71, 13352 g (1969).

- 179 A. Ferretti, V.P. Flanagan y J.M. Ruth, *J. Agr. Food Chem.*, 18, 13 (1970).
- 180 K. Heyns, J. Henkeshoven y K.H. Brose, *Angew. Chem. Intern. Ed. Eng.*, 7, 628 (1968).
- 181 H. Kato, *Agr. Biol. Chem.*, 24, 1 (1960).
- 182 H. Kato, *Agr. Biol. Chem.*, 26, 187 (1962).
- 183 H. Kato, *Agr. Biol. Chem.*, 27, 461 (1963).
- 184 E.F.L.J. Anet, *Australian J. Chem.*, 13, 396 (1960).
- 185 E.F.L.J. Anet, *Australian J. Chem.*, 12, 280 (1959).
- 186 P-S. Song y C.O. Chichester, *J. Food Science*, 31, 914 (1966).
- 187 G. Wendland, *Archiv. der Pharm.*, 285, 71 (1952).
- 188 H. Kato, G. Hognchi y M. Fujinaki, *Agr. Biol. Chem.*, 32, 916 (1968). *Chem. Abstr.*, 69, 73997 g (1968).
- 189 W.M. Foley Jr., G.E. Sanford y H.No. Kannis Jr., *J. Amer. Chem. Soc.*, 74, 5489 (1952).
- 190 J.E. Hodge, B.B. Fisher y E.C. Nelson, *Amer. Soc. Brewing Chem. Proceedings*, 84 (1963).

- 191 H. Simon, Ber., 95, 1003 (1962).
- 192 H. Simon y G. Heubach, Ber., 98, 3703 (1965).
- 193 B.E. Fisher y J.B. Hodge, J. Org. Chem., 29, 776 (1964).
- 194 F. Weygand, Arkiv. Kemi, 3, 11 (1951).
- 195 H. Obata y T. Tokuyama, Nippon Kagaku Zasshi, 91, 1098 (1970).
Chem. Abstr., 74, 142206 y (1971).
- 196 R. Nodsu, Bull. Chem. Soc. Japan, 10, 122 (1935).
- 197 E. Werle y P. Stuess, Biochem. Zeitschrift, 321, 485 (1951).
- 198 H.H. Beacham y M.F. Dull, Food Research, 16, 439 (1951).
- 199 J.F. Carson, J. Amer. Chem. Soc., 75, 4337 (1953).
- 200 E. Heyns, U. Sage y H. Paulsen, Carbohyd. Res., 2, 328 (1966).
- 201 A. Mohammad, H.S. Olcott y H. Fraenkel-Conrat, Arch. of Biochem.,
24, 270 (1949).
- 202 V.A. Haas, E.R. Stadtman, F.H. Stadtman y G. Mackinnay, J. Amer.
Chem. Soc., 70, 3576 (1948).
- 203 J.P. Kass y L.S. Palmer, Ind. Eng. Chem., 32, 1360 (1940).

- 204 A. Schönberg, R. Moubacher y A. Mostafa, *J. Chem. Soc.*, 176 (1948).
- 205 A. Schönberg y R. Moubacher, *Chem. Revs.*, 50, 261 (1952).
- 206 S. Akabori, *Ber.*, 66, 143 (1933).
- 207 F.H. Stadtman, C.O. Chichester y G. Mackinney, *J. Amer. Chem. Soc.*, 74, 3194 (1952).
- 208 M.L. Wolfrom, R.C. Schlicht, A.W. Langer Jr. y C.S. Rooney, *J. Amer. Chem. Soc.*, 75, 1013 (1953).
- 209 C. Enders y S. Sigurdsson, *Ber.*, 76, 560 (1943).
- 210 H.S. Barton y D.J. Mc Weeny, *Chem. Ind. (London)*, 462 (1964).
- 211 J.F. Carson, *J. Amer. Chem. Soc.*, 75, 4300 (1953).
- 212 O.G. Devik, *Acta Chem. Scandinavica*, 21, 2302 (1967).
- 213 K. Heyns y H. Koch, *Tetrahedron Letters*, 741 (1970).
- 214 M.J. Kort, *Adv. Carbohydr. Chem.*, 25, 311 (1970).
- 215 H. Kato, *Agr. Biol. Chem.*, 31, 1086 (1967).
- 216 E.F.L.J. Anet, *Australian J. Chem.*, 15, 503 (1962).

- 217 E.F.L.J. Anet, *Australian J. Chem.*, 16, 270 (1963).
- 218 A.E. Chichibabin, *J. Russ. Phys.-Chem. Soc.*, 37, 1229 (1905).
Chem. Zentr., 77, (I) 1438 (1906).
- 219 L. Haskelberg, *Chem. Ind. (London)*, 54, 261 (1935).
- 220 M.M. Sprung, *Chem. Revs.*, 26, 301 (1940).
- 221 T.M. Patrick Jr., *J. Amer. Chem. Soc.*, 74, 2984 (1952).
- 222 I.O. Mastronardi, S.M. Flematti, J.O. Deferrari y E.G. Gros,
Carbohyd. Res., 3, 177 (1966).
- 223 W. Bosshard y T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta*, 18, 959 (1935).
- 224 J.O. Deferrari, I.M.E. Thiel y R.A. Cadenas, *Anales Asoc. Quím. Arg.*, en prensa.
- 225 A.E. Zanlungo, J.O. Deferrari y R.A. Cadenas, *Carbohyd. Res.*,
14, 245 (1970) y referencias incluidas.
- 226 S.F. Mason, *J. Chem. Soc.*, 1247 (1959).
- 227 P. Dietrich y D. Mercier, *J. Chromat.*, 1, 67 (1958).

- 228 F. Feigl, *Spot Tests in Organic Analysis*, Elsevier, Amsterdam, 6 ed., 1960, p. 297.
- 229 D. Horton y M.J. Miller, *J. Org. Chem.*, 30, 2457 (1965).
- 230 I. Ježo e I. Lušák, *Chem. Zvesti*, 20, 586 (1966).
- 231 J.O. Deferrari y R.A. Cadenas, *J. Org. Chem.*, 28, 2613 (1963).
- 232 G.M. Barton, R.S. Evans y J.A.F. Gardner, *Nature*, 170, 249 (1952).
- 233 J. Green, S. Marcinkiewics y R.R. Watt, *J. Sci. Food Agric.*, 6, 274 (1955).
- 234 F. Weygand, *Arkiv. Kemi*, 3, 11 (1951).
- 235 L.C. Maillard, *Compt. Rend.*, 155, 1554 (1912).
- 236 R.W. Layer, *Chem. Rev.*, 63, 489 (1963).
- 237 K.N. Campbell, A.H. Sommers y B.K. Campbell, *J. Amer. Chem. Soc.*, 66, 82 (1944).
- 238 M.E. Tate y C.T. Bishop, *Canad. J. Chem.*, 40, 1043 (1962).
- 239 S.M. Partridge, *Nature*, 164, 443 (1949).
- 240 R. Dedonder, *Compt. Rend.*, 230, 997 (1950).

- 241 R.A. Cadenas y J.O. Deferrari, *Analyst*, 86, 132 (1961).
- 242 G. Schmidt, C. Fischer y J. Mc Owen, *J. Pharm. Sci.*, 52, 468 (1963).
- 243 B.N. Ames y H.K. Mitchell, *J. Amer. Chem. Soc.*, 74, 252 (1952).
- 244 I. Smith, "Chromat. Techniques", W. Heinemann Ltd., London, 1958, pág. 114.
- 245 "Reactivos de coloración para cromatografía en capa fina y papel" E. Merck, Darmstadt, Alemania, pág. 24.
- 246 H. Schweppe, "Papier Chromatographie in der Botanik", Springer, Heidelberg, 1955, pág. 82.
- 247 R. D. Guthrie, *Methods Carbohydr. Chem.*, 1, 435 (1962).
- 248 P.A. Mc Fadyen, *J. Biol. Chem.*, 158, 107 (1945).
- 249 F. Arndt, *Org. Syn. Coll. Vol.*, 2, 165 (1943).
- 250 W.J. Schut, H.I.X. Mager y W. Berends, *Rec. Trav. Chim.*, 80, 391 (1961).

INDICE

	Pág.
Introducción	1
<u>CAPITULO I</u>	
Derivados acetilados y benzoilados de D-fructosa y L-sor- bosa	2
<u>CAPITULO II</u>	
Formación de compuestos heterocíclicos por acción de amo- niaco sobre hidratos de carbono.	
Formación de imidazoles	22
Formación de piracinas	54
<u>CAPITULO III</u>	
Acción de amino compuestos sobre cetosas	77
<u>CAPITULO IV</u>	
Formación de sustancias poliméricas coloreadas a partir de hidratos de carbono y amino compuestos	103
<u>CAPITULO V</u>	
Descripción de nuestras experiencias e interpretación de los resultados.	
Síntesis y estructura de la 1,3,5 -tri-O-benzoil- α -L- sorbopiranosa	130
Síntesis de penta y hexabenoatos de L-sorbosa	139
AMONOLISIS DE ACIL DERIVADOS DE CETOSAS	140
Amonolisis de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-L-sor- bosa	147
Amonolisis de la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopirano- sa	165

Acción del amoníaco sobre la L-sorbosea	165
Amonólisis de la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- β -D-fructo- piranosa y de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-D-fruc- tosa	168
Acción del amoníaco sobre la D-fructosa	174
Formación de melanoidinas	175

CAPITULO VI

PARTE EXPERIMENTAL

Técnicas generales	184
SINTESIS DE ACETATOS Y BENZOATOS DE D-FRUCTOSA Y L-SORBO- SA.	
1,3,4,5,6-Penta-O-acetil-ceto-D-fructosa	186
1,3,4,5-Tetra-O-benzoil- β -D-fructopiranosa	187
1,3,4,5,6-Penta-O-acetil-ceto-L-sorbosea	187
1,3,5-Tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranosa	188
1,3,4,5-Tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranosa	189
Metil 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- α -L-sorbopiranosido	190
1,3,5-Tri-O-benzoil-4-O-metil- α -L-sorbopiranosa	191
4-O-Metil-L-sorbosea	192
Metil 1,3,5-tri-O-benzoil-4-O-metil- α -L-sorbopirano- sido	192
Metil 4-O-metil- α -L-sorbopiranosido	193
Benzoilación de la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopira- nosa	194
Hexabenzato I	195
Hexabenzato II	196
Penta-O-benzoil- α -L-sorbopiranosa	196

Desbenzoilación de la penta-O-benzoil- α -L-sorbopiranososa	197
REACCION DEL AMONIACO CON ACETATOS Y BENZOATOS DE L-SORBOSA Y D-FRUCTOSA.	
Reacción de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-L-sorbosa con amoniaco acuoso al 24%	198
Aislamiento de la 2-(L-xilo-tetrahidroxibutil)-6-(L-treo-2,3,4-trihidroxibutil)piracina	198
Aislamiento y estructura de la 2,5-bis-(L-xilo-tetrahidroxibutil)piracina	199
Tratamiento de las fracciones de la columna de celulosa. Compuestos imidazólicos	200
Estructura de la 2-(L-xilo-tetrahidroxibutil)-6-(L-treo-2,3,4-trihidroxibutil)piracina	202
Datos espectroscópicos	202
Oxidación con metaperiodato de sodio	202
Oxidación con agua oxigenada	203
2,6-Bis-(metoxicarbonil)piracina	204
2-(L-xilo-tetraacetoxibutil)-6-(L-treo-2,3,4-triacetoxibutil)piracina	204
Purificación de las melanoidinas	205
Acetilación de las melanoidinas	206
Hidrólisis de las melanoidinas	206
Oxidación de las melanoidinas	207
Reacción de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-L-sorbosa con amoniaco acuoso al 1%	208
Reacción de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-L-sorbosa con amoniaco isopropanólico al 1%	209

	Pág.
Reacción de la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -L-sorbopiranos	
con amoníaco isopropanólico al 5%	210
Acción del amoníaco metanólico al 16% sobre la L-sorbosa	211
Acción del amoníaco acuoso al 24% sobre la L-sorbosa	212
Formación de melanoidinas en la reacción del amoníaco so-	
bre la L-sorbosa	213
Reacción de la 1,3,4,5-tetra-O-benzoil- β -D-fructopirano-	
sa con amoníaco metanólico al 16%	214
Aislamiento de 2,5-bis-(D-arabino-tetrahidroxibutil)pi-	
racina	214
Aislamiento de 2-(D-arabino-tetrahidroxibutil)-5-(D-e-	
ritro-2,3,4-trihidroxibutil)piracina	215
Formación de melanoidinas	216
Formación de ácido benzoico	217
Amonólisis de la 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-ceto-D-fructosa	
con amoníaco acuoso al 24%	218
Acción del amoníaco sobre la D-fructosa	219
Resumen	221
Referencias bibliográficas	226